



10-04



# MultiReporter Assay System –Tripluc<sup>®</sup>– Vector Series

Code No.

MRV-101, MRV-102, MRV-103

MRV-201, MRV-202, MRV-203

MRV-301

MRV-501, MRV-502, MRV-503

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD. Life Science Department

OSAKA JAPAN

A3556K



## —目次—

[1]	はじめに.....	2
[2]	製品内容 .....	3
[3]	MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターの概要.....	4
	1. ルシフェラーゼ遺伝子.....	4
	2. short life タイプのルシフェラーゼ遺伝子.....	4
	3. ベクターバックボーン .....	5
[4]	哺乳類細胞におけるアッセイ方法の概略 .....	6
	1. 実験フロー .....	6
	2. 被験配列(プロモーター)のクローニング .....	6
	3. 発光の色分離測定.....	8
[5]	ベクターマップ及び配列情報 .....	10
[6]	ベクター制限酵素認識部位及び塩基配列.....	13
[7]	トラブルシューティング.....	30
[8]	参考文献 .....	30
[9]	関連商品 .....	31

## ご注意

本製品は研究用試薬です。診断・臨床用試薬として決して使用しないでください。本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。

本製品中のルシフェラーゼ遺伝子の使用にあたっては、独立行政法人産業技術総合研究所の許諾を受けています。ルシフェラーゼ遺伝子並びにこれらを用いたマルチ遺伝子転写活性測定技術について、独立行政法人産業技術総合研究所より特許出願中です。産業用利用については別途ライセンスが必要となりますので、弊社までお問い合わせください。

## [1] はじめに

レポーター遺伝子を用いた遺伝子発現解析は、レポーター遺伝子に連結されたシス作用性塩基配列（プロモーター、エンハンサー、サイレンサーなど）を含むプラスミドを細胞に導入し、このレポーター酵素の活性を指標に遺伝子発現を評価する手法です。これまで多くのレポーター酵素が用いられてきましたが、感度が高く、活性測定が簡便なことから、ルシフェラーゼの発光を利用したシステムが広く用いられています。

産業技術総合研究所・近江谷先生らは、多くの発光酵素（ルシフェラーゼ）をクローニングし、その中から緑色発光ルシフェラーゼ（**G**reen、最大発光波長 550 nm）、橙色発光ルシフェラーゼ（**O**range、580 nm）、赤色発光ルシフェラーゼ（**R**ed、630 nm）について、哺乳類細胞における発現の実用化に成功しました(1-5)。これらのルシフェラーゼの発光スペクトルは比較的シャープで、かつ pH の影響を受けることなく安定していることから（**S**table **L**uciferase）、色分離測定に適しています。弊社では、近江谷先生らとの共同開発により、これらのルシフェラーゼを用いて、2 つあるいは 3 つの遺伝子発現を同時に測定することが可能なマルチ遺伝子転写活性測定システム MultiReporter Assay System –Tripluc<sup>®</sup>–及び専用のベクターシリーズを開発しました。

本製品には以下の特長があります。

### **特長 1 3 つの発光スペクトル**

		最大発光波長(nm)	由来	アミノ酸配列
緑色発光ルシフェラーゼ	SLG	550	イリオモテボタル	野生型
橙色発光ルシフェラーゼ	SLO	580	イリオモテボタル	変異体 (T226N)
赤色発光ルシフェラーゼ	SLR	630	鉄道虫	野生型

3つの酵素活性は、色分離機能を備えたルミノメーターを用いて分離測定（同時測定）することが可能です。色分離機能を備えたルミノメーターとしては弊社カラフルックアナライザー<sup>TM</sup> (Code No. CLX-101) などがご利用いただけます。

特に、赤色発光ルシフェラーゼの発光は、実用化ルシフェラーゼの中でも最も長波長側にあります。

### **特長 2 共通の基質によるアッセイ**

いずれのルシフェラーゼも、ホタルルシフェラーゼと同じ D-luciferin を基質としており、1つの基質で3つのルシフェラーゼ活性を同時に測定することが可能です。従って、従来、複数反応あるいは複数工程で行っていたアッセイを、1ステップで効率よく行うことが可能です。

さらに3つのルシフェラーゼを用いることができますので、1つのルシフェラーゼをコントロール（内部標準）として、2つの調べたいプロモーターを同時に解析することも可能です。

### **特長 3 Short life タイプベクター(MRV-501,502,503,511)**

細胞内タンパク質半減期を短縮させ、バックグラウンドとなるシグナルが低減されています。サーカディアンリズム解析や刺激応答など、動的な遺伝子発現の解析に最適です。

## [2] 製品内容

### **MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズ**

品名	Size	Code No.
SLG プロモーター挿入用ベクター <b>pSLG-test</b>	20µg	MRV-101
SLO プロモーター挿入用ベクター <b>pSLO-test</b>	20µg	MRV-102
SLR プロモーター挿入用ベクター <b>pSLR-test</b>	20µg	MRV-103
SLG SV40 コントロールベクター <b>pSLG-SV40 control</b>	20µg	MRV-201
SLO SV40 コントロールベクター <b>pSLO-SV40 control</b>	20µg	MRV-202
SLR SV40 コントロールベクター <b>pSLR- SV40 control</b>	20µg	MRV-203
SLG HSVtk コントロールベクター <b>pSLG-HSVtk control</b>	20µg	MRV-301
SLG Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLG(PEST)-test</b>	20µg	MRV-501
SLO Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLO(PEST)-test</b>	20µg	MRV-502
SLR Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLR(PEST)-test</b>	20µg	MRV-503

### **MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクター専用プライマー**

品名	内容	Code No.
挿入配列確認用プライマー(フォワード、pSLG/pSLO/pSLR 共通) <b>SLGOR-F primer</b>	200 pmoles	MRV-401
挿入配列確認用プライマー(リバース、pSLG/pSLO 共通) <b>SLGO-R primer</b>	200 pmoles	MRV-402
挿入配列確認用プライマー(リバース、pSLR 用) <b>SLR-R primer</b>	200 pmoles	MRV-403

### [3] MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターの概要

#### 1. ルシフェラーゼ遺伝子

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズは、緑色発光ルシフェラーゼ (SLG、最大発光波長 550 nm)、橙色発光ルシフェラーゼ (SLO、580 nm)、及び赤色発光ルシフェラーゼ (SLR、630 nm) の 3 色のルシフェラーゼで構成されます。各ルシフェラーゼの発光スペクトルを図 1 に示します。

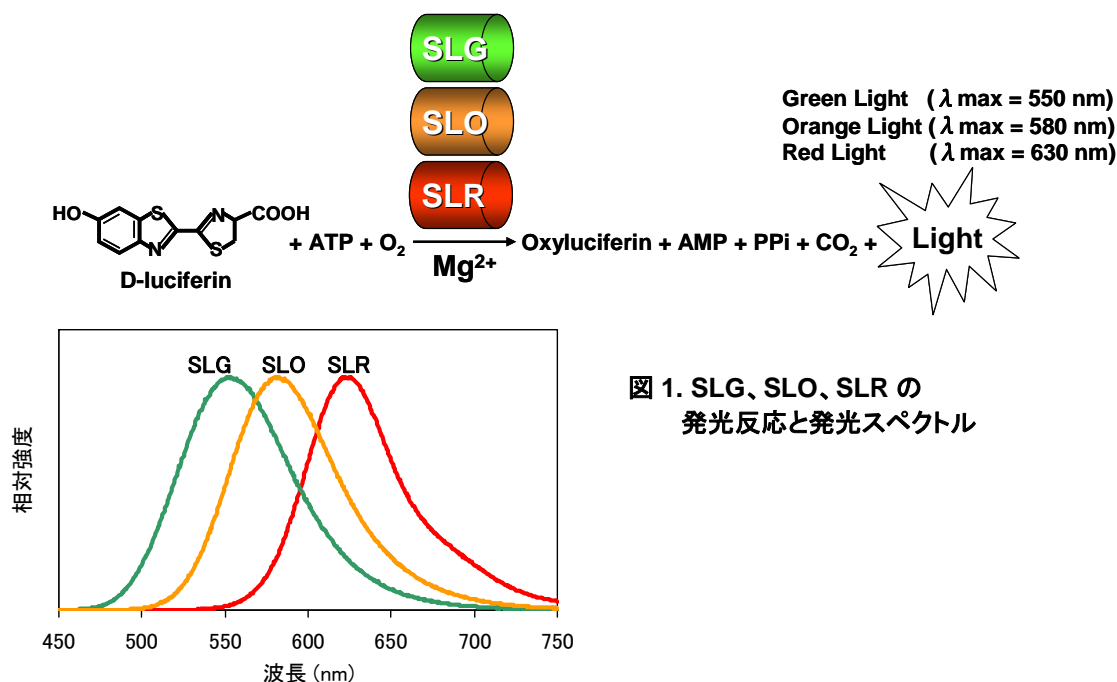


図 1. SLG、SLO、SLR の  
発光反応と発光スペクトル

#### 2. Short life タイプのルシフェラーゼ遺伝子

一般に、一度発現したルシフェラーゼなどのレポータータンパク質が細胞内に比較的長時間とどまることによってバックグラウンドとなるシグナルが生じ、遺伝子発現の変化を過小評価してしまうケースがあります。Liらは、マウス ornithine dehydrogenase 由来 PEST 配列をレポーターに付加することによって不安定化させることに成功しました(6)。Short life タイプベクターはこの技術に応用した高レスポンス型ルシフェラーゼベクターです。

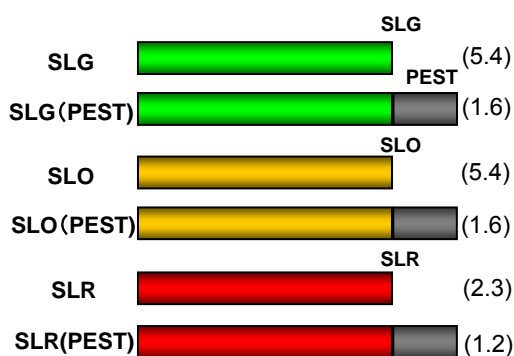


図 2. スタンドールシフェラーゼと Short life  
タイプルシフェラーゼ

( )内はシクロヘキシミド処理によって見積もられた細胞内半減期(単位: hr)を示す。

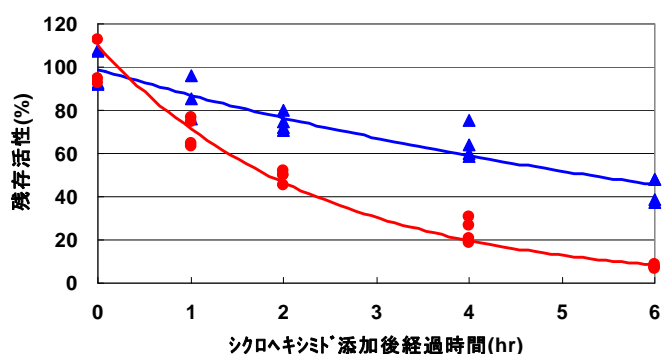


図3. SLO及びSLO(PEST) の細胞内安定性

SLO、SLO(PEST)を発現するCHO細胞をシクロヘキシミド処理した。残存発光活性をMultiReporter Assay System –Tripluc®– Detection Reagentsを用いて測定し、相対活性をプロットした。  
▲:SLO、●:SLO(PEST)。

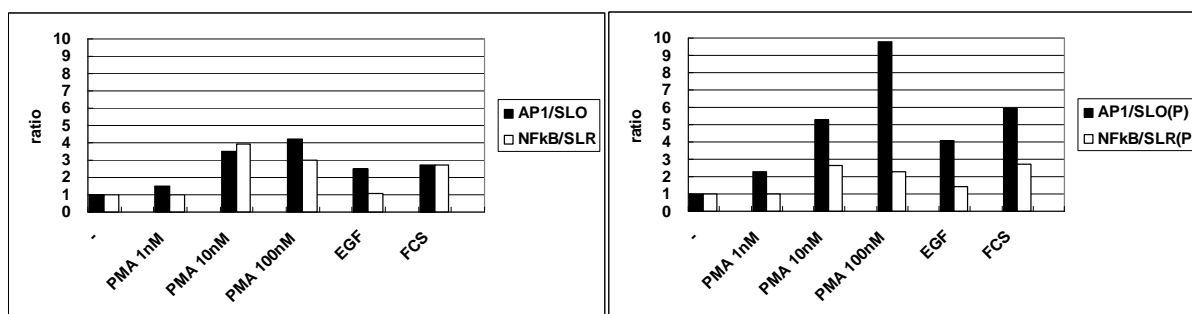


図 4. Short life タイプルシフェラーゼの初期応答性の向上

AP1 及び NFκB レスponseエレメントを各レポーターシフェラーゼに連結し、インターナルコントロール pSLG-HSVtk control とともに、HeLa S3 細胞にコトランスフェクションした。無血清培地に各薬剤を添加し、3 時間インキュベートした。その後、ルシフェラーゼ活性を測定し、未処理条件を 1 としてプロットした。

### 3. ベクターバックボーン

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズとして、マルチクローニングサイトを含むプロモーター挿入用ベクターである test ベクター、及び control ベクターを取り揃えています。SV40 プロモーターまたは HSVtk プロモーターを挿入した control ベクターを用途によって使い分けることができます。

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターは以下のエレメントを有しております。

#### **SV40 Early Promoter 及び Enhancer (pSLG/SLO/SLR-SV40 control)**

Simian virus 40 に由来する転写制御配列であり、様々な細胞種で強力で比較的安定した発現を示します。発現活性が高いため、トランスフェクション効率の低い細胞株を用いる場合など、シグナルのレベルに問題がある場合に特に有効なコントロール用プロモーター配列です。これらのエレメントを含む control ベクターは SV40 プロモーター内に SV40 の複製起点を有するため、COS-1 及び COS-7 細胞のような SV40 large T antigen を発現する細胞では、一過性の複製が認められます。

#### **HSVtk Promoter (pSLG-HSVtk control)**

Herpes simplex virus thymidine kinase (HSVtk) 由来の転写制御配列プロモーターであり、低レベルの安定発現プロモーターです。発現活性が低い一方、SV40 プロモーターに比べ薬剤などの実験処理により変動する可能性が低く、より安定した内部標準として有用なコントロール用プロモーター配列です。

#### **SV40 late poly(A) signal**

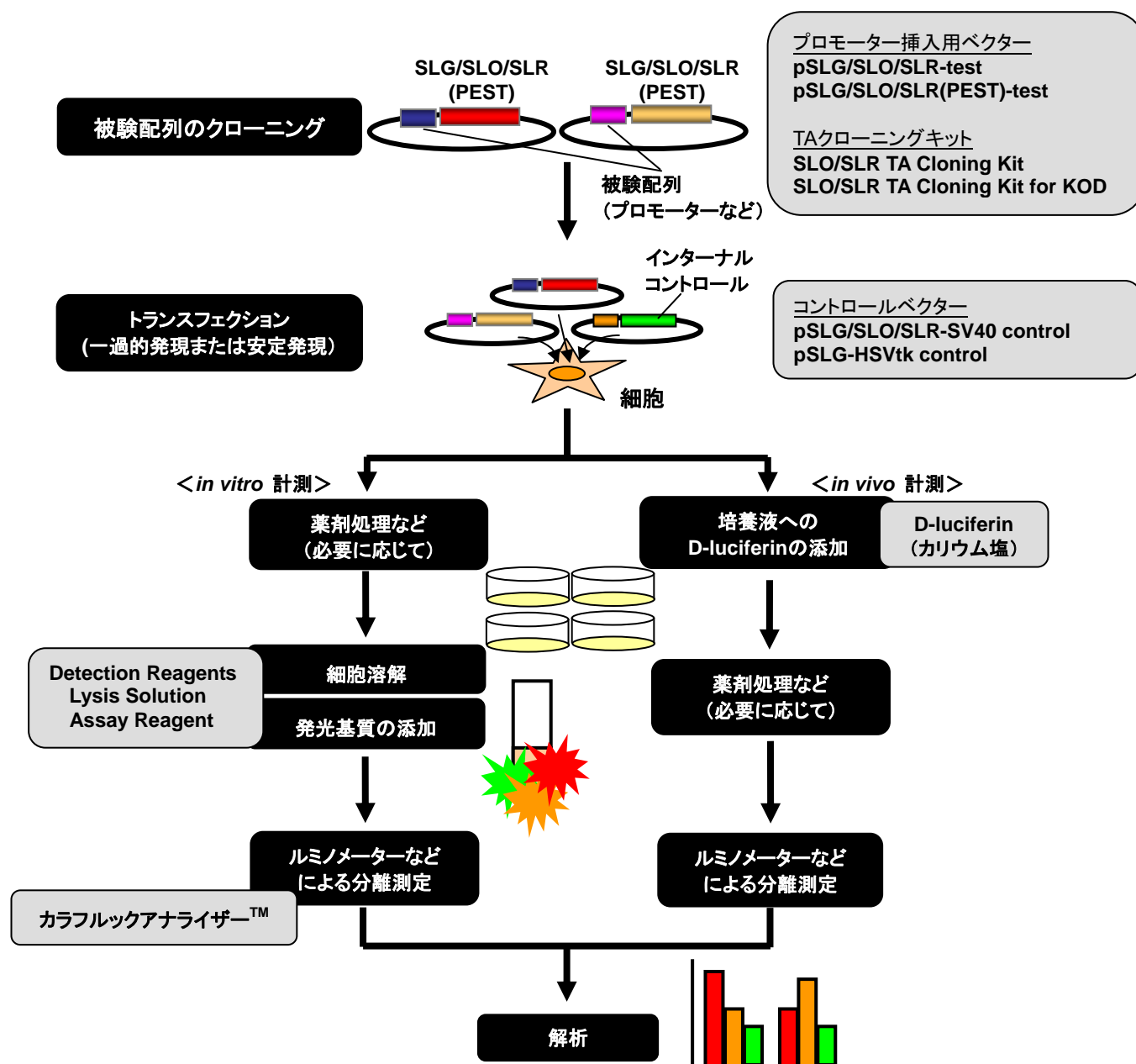
ポリアデニル化シグナルは RNA Polymerase II の転写終結に寄与し、転写産物の 3'末端に 200～250 bp 程度のアデノシンを付加します。これにより、RNA の安定性や翻訳効率が増大します。

#### **Background reduction signal**

ポリアデニル化シグナルである AATAAA を 2 つ含む SV40 early poly(A) signal をタンデムにルシフェラーゼ遺伝子上流に配置し、より強力な転写終結のためのシグナルとしてベクターバックボーンに起因するノイズシグナルを低減します(7)。マルチクローニングサイトの上流にタンデムに配置されているため、インサート確認用のプライマーを設計される場合には注意が必要です。「挿入配列確認用プライマー(フォワード、pSLG/pSLO/pSLR 共通) SLGOR-F primer」(Code No. MRV-401)のご使用をお勧めします(p.7 をご参照下さい)。

## [4] 哺乳類細胞におけるアッセイ方法の概略

### 1. 実験フロー



\*1 ; より精度の高い測定をしていただくために、SLG、SLO、SLR の発光量ができるだけ同レベルになるようにプラスミドの混合量を調整いただくことをお勧めいたします。この際、SLO、SLR に比べ SLG の発光の相対レベルが高いため、内部標準としてご利用いただくことをお勧めいたします (内部標準としての SLG をご利用いただくことで、多くの場合、内部標準として添加いただくプラスミド量を抑えることができます)。

\*2 ; 2 色のアッセイでは SLG と SLR の組み合わせをお勧めいたします。

### 2. 被験配列 (プロモーターなど) のクローニング

pSLG-test、pSLO-test、pSLR-test、pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test、pSLR(PEST)-test のマルチクローニングサイトへプロモーターなどのシスエレメントをクローニングします。

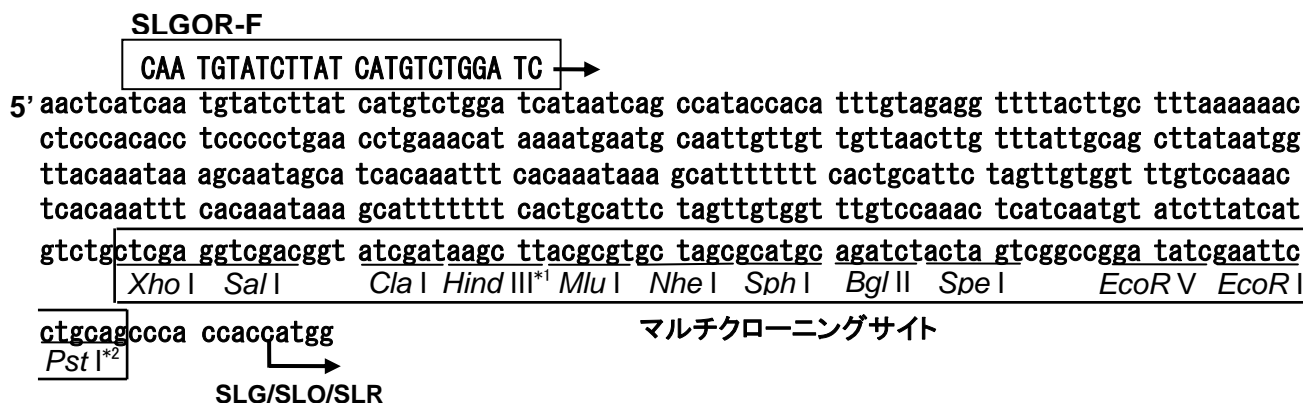


被験配列(プロモーターなど)のクローニングには、弊社 high fidelity ホットスタート PCR 酵素 KOD –Plus– (Code No. KOD-201)や KOD –Plus– Ver.2(Code No. KOD-211)のご使用をお薦めいたします。

インサートをご確認いただくためのコロニーダイレクト PCR あるいはシーケンス反応には、下記の挿入配列確認用プライマーのご使用をお薦めいたします。

## フォワードプライマー

### ① (pSLG/pSLO/pSLR 共通)「SLGOR-F primer」(Code No. MRV-401)



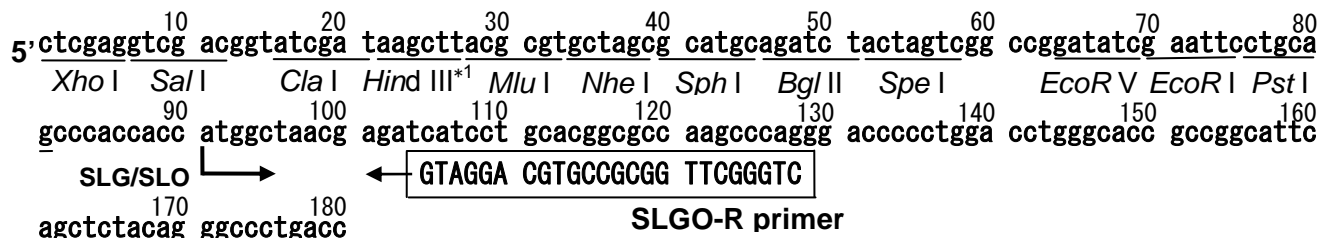
\*1 Hind III認識配列はpSLG/SLO/SLR(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお薦めできません。

\*2 Pst I認識配列はSLR遺伝子内にも存在しますので、pSLR-test、pSLR(PEST)-testベクターへのインサートの挿入に用いることはお薦めできません。

(注) バックグラウンド低減シグナルとして SV40 poly(A) signal が複数配置されているため、プライマーをマルチクローニングサイトの近傍に設計されますと、PCR 反応やシーケンス反応を上手く行うことができません。

## リバースプライマー

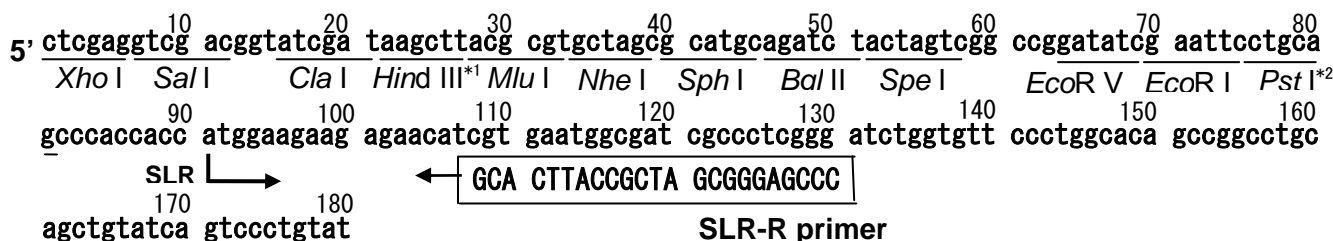
### ① (pSLG/pSLO 共通)「SLGO-R primer」(Code No. MRV-402)



\* 数字はpSLG-test、pSLO-test、pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-testの配列番号を示します。

\*1 Hind III認識配列はpSLG(PEST)/SLO(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお薦めできません。

### ② (pSLR 用)「SLR-R primer」(Code No. MRV-403)



\* 数字はpSLR-testの配列番号を示します。

\*1 Hind III認識配列はpSLR(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお薦めできません。

\*2 Pst I認識配列はSLR遺伝子内にも存在しますので、pSLR-testベクターへのインサートの挿入に用いることはお薦めできません。

### 3. 発光の色分離測定

MultiReporter Assay System –Tripluc®–の色分離測定には、弊社「カラフルックアナライザー™」(Code No. CLX-101)、アトー株式会社「ルミネッセンサーMCA」(Code No. AB-2250)、あるいは微弱発光対応型マルチラベルプレートリーダー(パーキンエルマー社「ARVO シリーズ」など)など、色分離機能を備えたルミノメーターを用いることにより分離測定が可能です。

さらに、リアルタイム計測にはアトー株式会社「クロノス」(Code No. AB-2500)による色分離測定が可能です。

#### (1) チューブタイプルミノメーターを用いた 3 色ルシフェラーゼの分離測定

弊社「カラフルックアナライザー™」やアトー株式会社「ルミネッセンサーMCA」を用いた測定方法をご紹介します。これらのルミノメーターには、色分離のため、560 nm ロングパスフィルター(560 nm LP、Filter 1)と 600 nm ロングパスフィルター(600 nm LP、Filter 2)が内蔵されています。

まず、SLG、SLO、SLR をそれぞれ別々に発現させた細胞を用いて、①フィルターを用いない測定(全光)、②560 nm LP (Filter 1)透過光の測定、③600 nm LP (Filter 2)透過光の測定を実施し、下記の係数を算出します。

係数名		表記	測定法
SLG	Filter 1 透過率	T1g	SLG 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2g	SLG 全光に対する Filter 2 透過光の割合
SLO	Filter 1 透過率	T1o	SLO 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2o	SLO 全光に対する Filter 2 透過光の割合
SLR	Filter 1 透過率	T1r	SLR 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2r	SLR 全光に対する Filter 2 透過光の割合

3 色のルシフェラーゼを含むサンプル中の SLG、SLO、SLR の発光量を G、O、R とした場合、①フィルターを用いない測定(全光)光量;F0、②560 nm LP (Filter 1)透過光の測定光量;F1、③600 nm LP (Filter 2)透過光の測定光量;F2 は下記のように記述されます。

$$F0 = G + O + R$$

$$F1 = T1g * G + T1o * O + T1r * R$$

$$F2 = T2g * G + T2o * O + T2r * R$$

つまり、各係数を決定し、F0、F1、F2 を測定することによって、G、O、R は下記のように算出されます。

$$G = \frac{(T1o * T2r - T1r * T2o) * F0 + (T2o - T2r) * F1 + (T1r - T1o) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

$$O = \frac{(T1r * T2g - T1g * T2r) * F0 + (T2r - T2g) * F1 + (T1g - T1r) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

$$R = \frac{(T1g * T2o - T1o * T2g) * F0 + (T2g - T2o) * F1 + (T1o - T1g) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

カラフルックアナライザー™では、係数を予め入力しておくことで、G、O、R を自動で算出することが可能です。

\* 上記測定原理は、アトー株式会社より特許出願中です(特開 2004-333457)。

\* \* 2 色の場合の分離測定には、560 nm LP (Filter 1)または600 nm LP (Filter 2)のいずれかのフィルター、及び全光の測定で色分離測定が行えます。SLG 及び SLR、SLO 及び SLR をご使用の場合は 600 nm LP (Filter 2)を、SLG 及び SLO をご使用の場合は 560 nm LP (Filter 1)を選択いただくことをお勧めいたします。

## (2) プレートリーダーを用いた3色ルシフェラーゼの分離測定<sup>(\*)</sup>

パーキンエルマー社「ARVO シリーズ」を用いた測定方法をご紹介します。測定用フィルターとして、①波長 510nm:半値幅 60nm (Filter1)、②595nm:60nm (Filter2)、③660nm:100nm (Filter3)を使用します。

まず、SLG、SLO、SLR をそれぞれ別々に発現させた細胞を用いて、①フィルターを用いない測定(全光)、②Filter 1 透過光の測定、③Filter 2 透過光の測定、④Filter 3 透過光の測定を実施し、下記の係数を算出します。

係数名		表記	測定法
SLG	Filter 1 透過率	T1g	SLG 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2g	SLG 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3g	SLG 全光に対する Filter 3 透過光の割合
SLO	Filter 1 透過率	T1o	SLO 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2o	SLO 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3o	SLO 全光に対する Filter 3 透過光の割合
SLR	Filter 1 透過率	T1r	SLR 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2r	SLR 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3r	SLR 全光に対する Filter 3 透過光の割合

3色のルシフェラーゼを含むサンプル中のSLG、SLO、SLRの発光量をG、O、Rとした場合、①Filter 1の測定光量;F1、②Filter 2の測定光量;F2、③Filter 3の測定光量;F3は下記のように記述されます。

$$\begin{pmatrix} F1 \\ F2 \\ F3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T1g & T1o & T1r \\ T2g & T2o & T2r \\ T3g & T3o & T3r \end{pmatrix} \begin{pmatrix} G \\ O \\ R \end{pmatrix}$$

つまり、各係数を決定し、F0、F1、F2を測定することによって、G、O、Rは下記のように算出されます。

$$\begin{pmatrix} G \\ O \\ R \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T1g & T1o & T1r \\ T2g & T2o & T2r \\ T3g & T3o & T3r \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} F1 \\ F2 \\ F3 \end{pmatrix}$$

この計算は、Microsoft® Excelを用いて行うことができます。下記のMicrosoft® Excelの関数をご利用ください。

### 逆行列の算出

算出結果(逆行列)を表示するセル(「3行×3列」の範囲)を指定後、「MINVERSE」関数を選択し、元になる配列(「3行×3列」の範囲)を指定し、「Ctrl キー+ Shift キー」を押しながら「OK」をクリックします。

### 行列計算

算出結果を表示するセル(「3行×1列」の範囲)を指定後、「MMULT」関数を選択し、透過率の逆行列(「3行×3列」の範囲)及び測定値の行列(「3行×1列」の範囲)の配列2つを指定後、「Ctrl キー + Shift キー」を押しながら「OK」をクリックします。

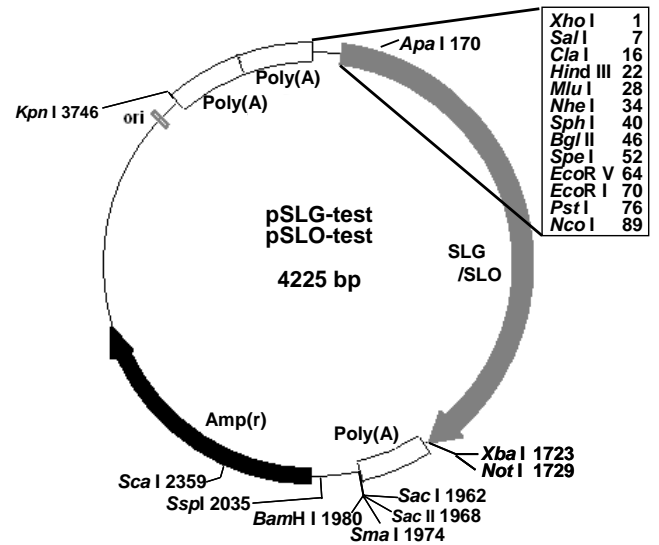
\* 特許出願中

## [5] ベクターマップ及び配列情報

### (1) pSLG-test、pSLO-test

#### pSLG-test、pSLO-test

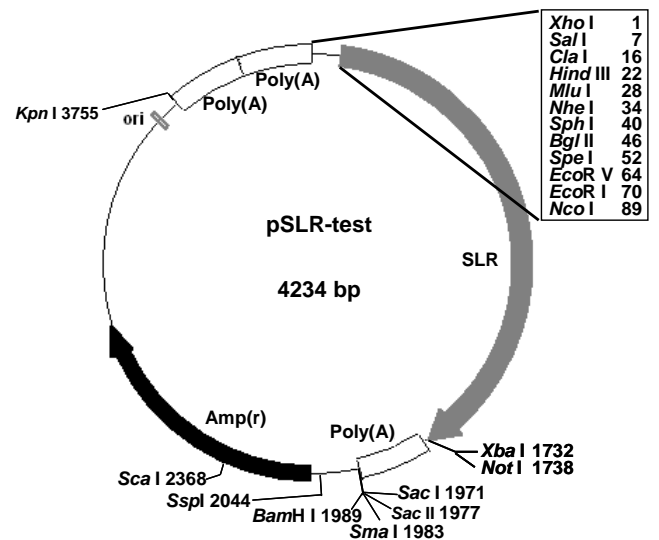
Multiple cloning region	1-77
SLG/SLO gene	91-1722
SV40 late poly(A) signal	1736-1961
β-lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2055-2915
background reduction signal	3752-4225
SLGOR-F primer	3968-3992
SLGO-R primer(complementary)	105-128



### (2) pSLR-test

#### pSLR-test

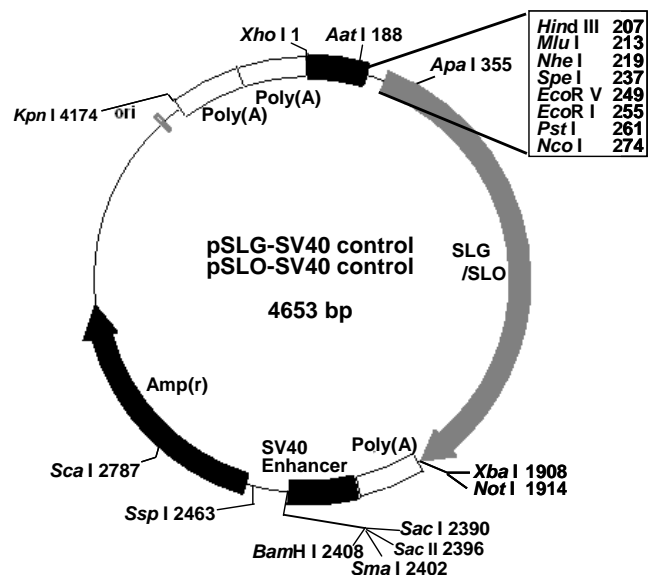
Multiple cloning region	1-77
SLR gene	91-1731
SV40 late poly(A) signal	1745-1970
β-lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2064-2924
background reduction signal	3761-4234
SLGOR-F primer	3977-4001
SLR-R primer(complementary)	108-130



### (3) pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

#### pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

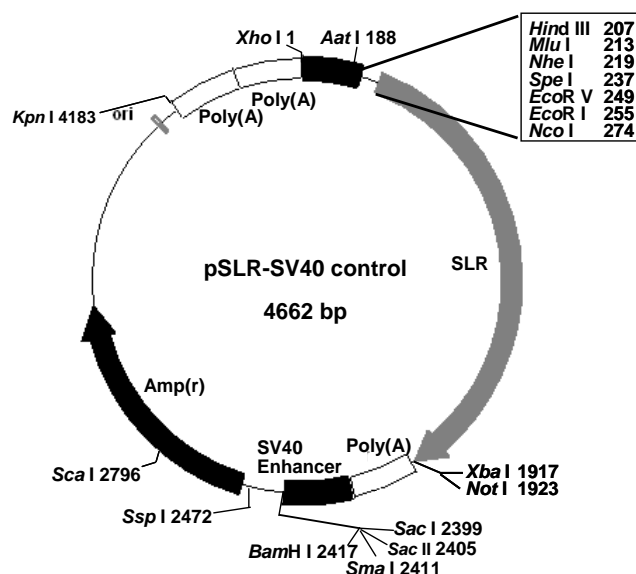
SV40 early promoter	7-207
SLG/SLO gene	276-1907
SV40 late poly(A) signal	1921-2144
SV40 enhancer	2145-2389
β-lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2483-3343
background reduction signal	4180-4653



#### (4) pSLR-SV40 control

##### pSLR-SV40 control

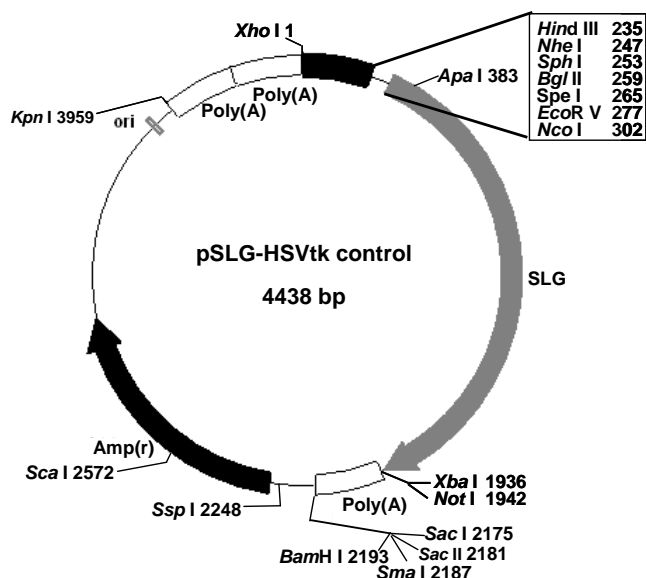
SV40 early promoter	7-207
SLR gene	276-1916
SV40 late poly(A) signal	1930-2153
SV40 enhancer	2154-2398
$\beta$ -lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2492-3352
background reduction signal	4189-4662



#### (5) pSLG-HSVtk control

##### pSLG-HSVtk control

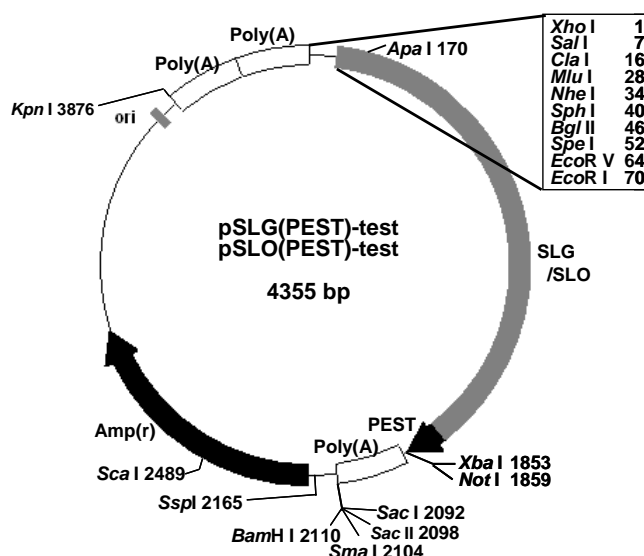
HSVtk promoter	7-234
SLG gene	304-1935
SV40 late poly(A) signal	1949-2174
$\beta$ -lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2268-3128
background reduction signal	3965-4438



#### (6) pSLG(PEST)-test, pSLO(PEST)-test

##### pSLG(PEST)-test, pSLO(PEST)-test

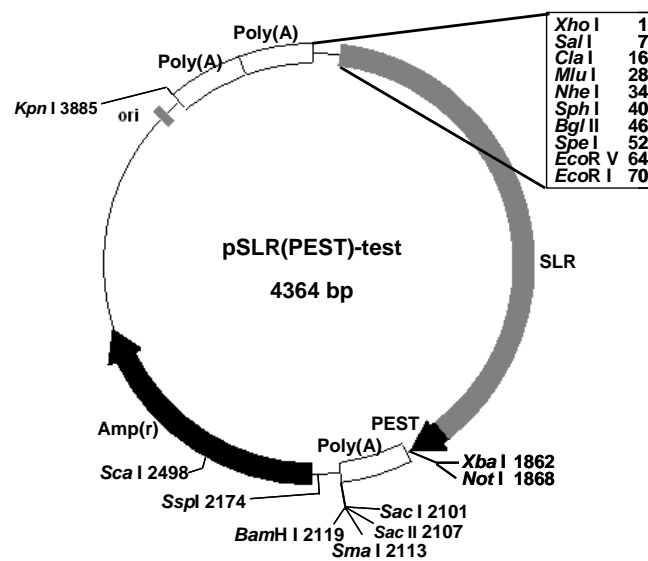
Multiple cloning region	1-77
SLG/SLO gene	91-1719
PEST	1720-1842
SV40 late poly(A) signal	1860-2090
$\beta$ -lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2185-3045
background reduction signal	3876-4355
SLGOR-F primer	4098-4122
SLGO-R primer(complementary)	105-128



## (7) pSLR(PEST)-test

### pSLR(PEST)-test

Multiple cloning region	1-77
SLR gene	91-1728
PEST	1729-1851
SV40 late poly(A) signal	1869-2099
$\beta$ -lactamase (Amp <sup>r</sup> ) gene	2194-3054
background reduction signal	3885-4364
SLGOR-F primer	4107-4131
SLR-R primer(complementary)	108-130



## [6] ベクター制限酵素認識部位及び塩基配列

### (1) pSLG-test、pSLO-test

表 1. pSLG-test、pSLO-test ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3746	<i>Bsp</i> CI	1	2470	<i>Nco</i> I	1	89
<i>Acc</i> I	2	7 263	<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Ac</i> /I	2	2239 2612	<i>Bsp</i> MI	2	1114 651	<i>Not</i> I	1	1729
<i>Afl</i> III	2	28 3730	<i>Bsr</i> BRI	2	3752 3989	<i>Nsp</i> I	2	40 3730
<i>Ahd</i> I	1	2837	<i>Bsr</i> DI	2	2601 2783	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Alw</i> 44I	2	2170 3416	<i>Bsr</i> GI	1	368	<i>Pci</i> I	1	3730
<i>Alw</i> NI	2	565 3316	<i>Bss</i> SI	2	2173 3557	<i>Psh</i> BI	1	2666
<i>Apa</i> I	1	170	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Psp</i> AI	1	1974
<i>Apa</i> LI	2	2170 3416	<i>Bst</i> ZI	2	58 1730	<i>Pst</i> I	1	76
<i>Ase</i> I	1	2666	<i>Bsu</i> 36I	1	192	<i>Pvu</i> I	1	2470
<i>Ava</i> I	2	1 1974	<i>Cfr</i> 9I	1	1974	<i>Pvu</i> II	1	258
<i>Avi</i> II	1	2617	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Sac</i> I	1	1962
<i>Axy</i> I	1	192	<i>Drd</i> I	1	3622	<i>Sac</i> II	1	1968
<i>Bal</i> I	2	1016 1061	<i>Eag</i> I	2	58 1730	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bam</i> HI	1	1980	<i>Eam</i> 1105I	1	2837	<i>San</i> DI	1	128
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Ec</i> /HKI	1	2837	<i>Sca</i> I	1	2359
<i>Bbs</i> I	2	1152 1630	<i>Eco</i> 52I	2	58 1730	<i>Sex</i> AI	1	1421
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Eco</i> 81I	1	192	<i>Sgr</i> AI	2	1020 1509
<i>Bcg</i> I	1	2315	<i>Eco</i> ICRI	1	1962	<i>Sma</i> I	1	1974
<i>Bgl</i> I	1	2718	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bmr</i> I	2	2792 563	<i>Fsp</i> I	1	2617	<i>Ssp</i> I	1	2035
<i>Bsa</i> AI	1	1183	<i>Hind</i> III	1	22	<i>Tfi</i> I	2	881 923
<i>Bsa</i> BI	2	3752 3989	<i>Psp</i> OMI	1	170	<i>Vsp</i> I	1	2666
<i>Bso</i> BI	2	1 1974	<i>Kpn</i> I	1	3746	<i>Xba</i> I	1	1723
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> 1407I	1	368	<i>Msc</i> I	2	1016 1061	<i>Xma</i> I	1	1974

表2. pSLG-test、pSLO-testベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI
<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cpo</i> I
<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I
<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI
<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I
<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I					

### pSLG-test ベクター配列

```

1  ctcgaggctcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcgc aattcctgca
81  gccaccacc atggctaacg agatcatcct gcacggcgcc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc
161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tctgaggga ggccctgacg gacgccaca ccgaggaggt ggtgtcttac
241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgt acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt
321 gtgcagcgag aatagacca tcttcttcta cccgtgacg gccgcctgt acatggcggt gatcaccgcc accgtgaacg

```

401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga ccctgaacat ctccaagccc gaactggtgt tctgctcaa gaaggccatc  
 481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatgggcca  
 561 ggcccagtgct ctgagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg  
 641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccaccggc ctgccaaagg gcgtggtgct gaccacagg  
 721 aacctgagcg tgcgcttctg ccactgcaag gacccctgtg tcggcaccag aacctcccc tccacctcca tctgttccat  
 801 cgtgcccttc caccacgcct tcggaatgtt cacaaccctg tcctacttca tctggtggct gagagtgtgt ctgctgaaga  
 881 gattcgagga gaagtcttct ctgagcacca tcgagaagta cagaatccca acaatcgtgc tggccctctc tgtgatgtg  
 961 ttcctggcta agagcccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcggcg cccctgtggg  
 1041 caccgaggtt gcgctggccg tggccaagcg gctgaagatc ggcgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgtc  
 1121 gcgccgtgct gatcaccccc cagcagcagc tgaagaccgg ctccaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
 1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
 1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggtt ggctgcactc cggcgacgtg ggatactacg  
 1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggtgaaaga gctgatcaag tacaagggtt accaggtggc ccccgccgag  
 1441 ctggagtggc tgcctgctca gcacccatcc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg ccggcgagct  
 1521 gcccgcgccc tgcctcgtgc tccaggaggg caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgcc gagcgagtgt  
 1601 ctcccaccaa gcgcatccgg ggccgagtcg tctcgttggc cgacatcccc aaggcgccca ccggcaagct ggtgagaagc  
 1681 gagctcgga agctgctggc ccagaagaag tccaagctgt aatctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat  
 1761 gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaaat gctttatttg tgaaatttgt gatgctattg ctttatttgt  
 1841 aaccattata agctgcaata aacaagttaa caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg  
 1921 aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca aatgtggtat ggagctcccg cggcccgggg gatcctcaaa tatgtatccg  
 2001 ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc  
 2081 ccttattccc ttttttgogg cattttgcc tctgttttt gctcaccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag  
 2161 atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgagaa  
 2241 cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact  
 2321 cggtcgccgc atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcattctacg gatggcatga  
 2401 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga  
 2481 ccgaaggagc taaccgcttt ttgcacaac atgggggagc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga  
 2561 agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac  
 2641 tacttactct agcttcccg caacaattaa tagactggat ggagcggtat aaagtgtcag gaccacttct gcgctcggcc  
 2721 cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcgtg atcattgcag cactggggcc  
 2801 agatggtaag cctcccgta tcgtagtatt ctacacgagc gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg  
 2881 ctgagatagg tgcctcactg attaaagcatt ggttaactgt agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa  
 2961 cttcatTTTT aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac gtgagttttc  
 3041 gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct  
 3121 tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttggtt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggttaact  
 3201 ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc  
 3281 accgcctaca tacctcgtc tgctaatact gttaccagt gctgctgcca gtggcgataa gtogtgtctt accgggttg  
 3361 actcaagacg atagttaacc gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga  
 3441 acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gaaaaagcgc cagccttccc gaaggagaa aggcggacag  
 3521 gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcagc agggagcttc cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc  
 3601 ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc  
 3681 agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc ttttctgctg cttttgctca catgttcttt cctgcggtac cgatcataat  
 3761 cagccatacc acattttag aggttttaact tgccttaaaa aacctccac acctccccc gaacctgaaa cataaaatga  
 3841 atgcaattgt tgttgtaaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaaat  
 3921 aaagcatttt tttcactgca ttctagtgtt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag  
 4001 ccataccaca tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac ctcccacacc tccccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg  
 4081 caattgttgt tgttaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa  
 4161 gcattttttt cactgcattc tagttgttgt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctg

# pSLO-test ベクター配列

1 ctcgaggtcg acggtatcga taagcttaac cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcgc aattcctgca  
 81 gccaccacc atggctaacc agatcatcct gcacggcgcc aagcccagg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
 161 agctctacag gccctgacc aacttctcct tctgaggga gccctgacg gacggccaca ccgaggaggt ggtgtcttac  
 241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgtc acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt



321 gtgcagcgag aatagcacca tcttcttcta ccccgatgc gccgcctgt acatgggggt gatcacggc accgtgaacg  
401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactgggtg tctgctcaa gaaggccatc  
481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatgggga  
561 ggcccagtg ctagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg  
641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccacgggc ctgccaaagg gcgtgggtgt gaccacagg  
721 aacctgagcg tgcgcttctg ccactgcaag gacccctgt tggcaacag aacctcccc tccacctcca tctgtccat  
801 cgtgcccttc caccacgct tcggaatgt cacaacctg tcctacttca togtgggct gagagtgggt ctgctgaaga  
881 gattcgagga gaagtcttc ctgagcacca tcgagaagta cagaatcca acaatcgtg tggccctcc tgtatgggtg  
961 ttcctggcta agagccccc gtgggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcgcg cccctgtggg  
1041 caccgaggtt gccgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggcgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgt  
1121 gcgccgtgt gatcaccccc cagcagcag tgaagaccg ctccacggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggcatcgc aaggagggt ggctgcactc cggcgacgtg ggatactacg  
1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggt accaggtggc cccgcggag  
1441 ctggagtggc tgctgtcca gcacccatcc atcaaggatc cggcgctgac cggcgtgccc gacgaggcg cggcgagct  
1521 gcccggcgcc tgcctgtgc tccaggagg caagagcctg accgagcagg agatcatga ctacatgcc gagcaggtgt  
1601 ctcccaccaa gcgcatccg ggcgagtg tctcgttga cgacatccc aaggcgcca cggcaagct ggtgagaagc  
1681 gagctcgga agctgtggc ccagaagaag tccaagctgt aatctagagc ggccggcag acatgataag atacattgat  
1761 gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaat gctttattt tgaatttgt gatgtattt cttatttgt  
1841 aaccattata agctgcaata aacaagttaa caacaacat tgcatcatt ttatgttca ggttcagggg gaggtgtggg  
1921 aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca aatgtgtat ggagctccc cggccgggg gatcctcaa tatgtatccg  
2001 ctcatgagac aataaccctg ataatgtct caataatatt gaaaaaggaa gattatgagt attcaacatt tccgtgtcgc  
2081 ccttattccc ttttttggc catittgcct tctgtttt gctcaccag aaacgctgt gaaagtaaaa gatgtgaag  
2161 atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg aactggatct caacagcgt aagatccttg agagttttcg cccgaagaa  
2241 cgttttcaa tgatgagcac ttttaaagt ctgctatgt gcgcggtatt atccgtatt gacggcggc aagagcaact  
2321 cggtcgccc atacactatt ctcaaatga cttggttag tactaccag tcacagaaa gcactttac gatggcatga  
2401 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtg taacactgc gccaacttac tctgacaac gatcgaggga  
2481 ccgaaggagc taaccgctt tttgcacaac atgggggac atgtaactc cttgatcgt tgggaaccg agctgaatga  
2561 agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgca caaactatta actggcgaac  
2641 tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggagcggt aaagttcgac gaccacttct gcgtcggcc  
2721 cttccggctg gctggtttat tctgataaaa tctggagcg gtgagcgtg gtctcgcgt atcattgcag cactggggcc  
2801 agatggtaag cctcccgtat tcgtagtat ctacacgagc gggagtcagg caactatgga tgaacgaat agacagatc  
2881 ctgagatagg tgccctactg attaagcatt ggttaactgc agaccaagt tactcatata tactttagat tgatttaaaa  
2961 cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatcctt ttgataatc catgacaaa atcccttaac gtgagttttc  
3041 gttccactga gcgtcagacc cgttagaaaa gatcaaagga tctcttgag atccttttt tctgcgcta atctgtgtc  
3121 tgcaaaaaa aaaaccacc ctaccagcg tggtttgtt gccgatcaa gagctacaa ctctttttcc gaagtaact  
3201 ggcttcagca gagcgagat accaaatact gttcttctag tgtagccgt gttaggccac cacttcaaga actctgtagc  
3281 accgcctaca tacctcgtc tctaatcct gttaccagt gctgtgcca gtggcgataa gtogtgcct accgggttg  
3361 actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcgg ctgaacggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga  
3441 acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gaaaaagcgc cagccttccc gaaggagaa aggcggacag  
3521 gtatccggtg agcggcagg tgggaacagg agagcgcagc agggagctt cagggggaaa gccttggtat ctttatagtc  
3601 ctgtcgggtt tgcacacct tgacttgagc gtcgatttt gtgatgctc tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc  
3681 agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc ttttgcgtc cttttgctc catgttctt cctgcggtac cgatcataat  
3761 cagccatacc acattttag aggttttact tgccttaaaa aacctccac acctccccc gaacctgaaa cataaaatga  
3841 atgcaattgt tgttgtaac ttgtttatt cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat  
3921 aaagcatttt tttcactgca ttctagtgt gtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag  
4001 ccataaccaca tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg  
4081 caattgttgt tgttaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaataa agcaatagca tcacaaattt cacaataaa  
4161 gcatttttt cactgcattc tagttgtgt ttttccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctg

## (2) pSLR-test

表1. pSLR-test ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3755	<i>Bst</i> EII	1	1599	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Acc</i> I	1	7	<i>Bst</i> PI	1	1599	<i>Not</i> I	1	1738
<i>Ac</i> /I	2	2248 2621	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Nsp</i> V	1	250
<i>Afl</i> III	2	28 3739	<i>Bst</i> ZI	2	58 1739	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	2	1070 2846	<i>Bsu</i> 36I	1	694	<i>Pci</i> I	1	3739
<i>Alw</i> 44I	2	2179 3425	<i>Cbi</i> I	1	250	<i>Ple</i> I	2	2852 3369
<i>Apa</i> LI	2	2179 3425	<i>Cfr</i> 9I	1	1983	<i>Psh</i> BI	1	2675
<i>Ase</i> I	1	2675	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Psp</i> 1406I	2	2248 2621
<i>Avi</i> II	1	2626	<i>Csp</i> 45I	1	250	<i>Psp</i> AI	1	1983
<i>Axy</i> I	1	694	<i>Drd</i> I	1	3631	<i>Pvu</i> I	2	117 2479
<i>Bam</i> HI	1	1989	<i>Eag</i> I	2	58 1739	<i>Pvu</i> II	2	160 1519
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eam</i> 1104I	2	97 2057	<i>Sac</i> I	1	1971
<i>Bbe</i> I	1	1162	<i>Eam</i> 1105I	2	1070 2846	<i>Sac</i> II	1	1977
<i>Bbs</i> I	1	903	<i>Ear</i> I	2	97 2057	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Ecl</i> HKI	2	1070 2846	<i>Sbf</i> I	1	1089
<i>Bbv</i> CI	1	1686	<i>Eco</i> 52I	2	58 1739	<i>Sca</i> I	1	2368
<i>Bci</i> VI	2	2003 3530	<i>Eco</i> 81I	1	694	<i>Sex</i> AI	1	1424
<i>Bcl</i> I	2	662 707	<i>Eco</i> ICRI	1	1971	<i>Sfo</i> I	1	1162
<i>Bgl</i> I	2	1658 2727	<i>Eco</i> O65I	1	1599	<i>Sgf</i> I	1	116
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sgr</i> AI	1	1341
<i>Bmr</i> I	1	2801	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sma</i> I	1	1983
<i>Bsa</i> I	2	2779 1111	<i>Eco</i> T14I	1	89	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bse</i> RI	1	944	<i>Ehe</i> I	1	1162	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Fba</i> I	2	662 707	<i>Sse</i> 8387I	1	1089
<i>Bsp</i> 1407I	1	404	<i>Fsp</i> I	1	2626	<i>Ssp</i> I	1	2044
<i>Bsp</i> CI	2	117 2479	<i>Hind</i> III	1	22	<i>Sty</i> I	1	89
<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Kas</i> I	1	1162	<i>Vsp</i> I	1	2675
<i>Bsp</i> MI	1	1616	<i>Kpn</i> I	1	3755	<i>Xba</i> I	1	1732
<i>Bsr</i> BI	2	1736 2007	<i>Lsp</i> I	1	250	<i>Xcm</i> I	2	968 1307
<i>Bsr</i> DI	2	2610 2792	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsr</i> GI	1	404	<i>Mly</i> I	2	3369 2852	<i>Xma</i> I	1	1983
<i>Bss</i> SI	2	2182 3566	<i>Nar</i> I	1	1162	<i>Xmn</i> I	1	2247
<i>Bst</i> BI	1	250	<i>Nco</i> I	1	89			

表 2. pSLR-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apa</i> I	<i>Asc</i> I
<i>Avr</i> II	<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI
<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III
<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O109I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I
<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OMI
<i>Rsr</i> II	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I

### pSLR-test ベクター配列

```

1  ctcgaggctcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccggatatcg aattcctgca
91  gccaccacc atggaagaag agaacatcgt gaattggcga cgccctcggg atctggtgtt ccctggcaca gccggcctgc
161 agctgtatca gtccctgtat aaatactctt acatcaccga cggaatcatc gacgccaca ccaacgaggt gatctcctat
241 gccagattt tcgaaacaag ttgccgcctg gccgtgagcc tggagaagta tggcctggat cacaacaacg tgggtggccat

```

321 ttgcagcgag aacaacatcc acttcttcgg ccctctgac gctgcctat accaggggat tccaatggcc acatccaacg  
401 atatgtacac cgagaggag atgacggcc acctgaacat ctccaagcca tgtctgatgt tctgttccaa gaagtccctg  
481 ccattcatcc tgaaggtgca gaagcacctg gactttctca agaaggatgat cgtgatcgac agcatgtacg acatcaacgg  
561 cgtggagtgc gtgttcagtt tctgttcccg gtacaccgat catgcgttcg atccagtga gttcaaccct aaagagtttg  
641 atccccctgga gagaaccgag ctgatcatga catcctctgg aacaaccggc ctgcctaagg gcgtggtgat cagccacagg  
721 agcatcacca tcagattcgt ccacagcagc gatcccatct acggcacccg catcgcccca gatacatcca tcttgcccat  
801 cggccctttc caccacgct tcggactgtt taccgccctg gcttactttc cagtgggctt gaagatcgtg atggtgaaaa  
881 agtttgaggg cgagtcttct ctgaagacca tccagaacta caagatcgt tctatcgtgg tgctcctcc aatcatggtg  
961 tatctggcca agagccctct ggtggatgag tacaatctgt ccagcctgac agagatcgcc tgtggcggct cccctctggg  
1041 cagagacatc gccgacaagg tggccaagag actgaagtc cacggcatcc tgcagggcta tggcctgacc gagacctgta  
1121 gcgcccctgat cctgagcccc aacgatagag agctgaagaa gggcgccatc ggcaccccta tgccctatgt ccagggtgaag  
1201 gtgattgaca tcaacaccgg caaagccctg ggaccaagag agaaggcgga gatttgcctt aagagccaga tgcgtatgaa  
1281 gggctaccac aacaaccac agggcaccag gtagccctg gacaaggacg ggtggctgca caccggcgat ctgggctact  
1361 acgacgagga cagattcatc tatgtggtgg atcggtgaa agaactcatc aagtacaagg gctaccaggt ggcccctgcc  
1441 gagctggaga acttgcttct gcagcaccct aacatctctg atgcggcgt catcgccatc ccagacgagt ttgcggcca  
1521 gctgccttcc gctgtgtcg tctggagcc tggcaagacc atgaccgaga aggaggtgca ggattatct gccgagctgg  
1601 tgaccaccac caagcacctg cggggcggcg tgggttctat cgacagcatt ccgaaaggcc caacaggcaa gctgatgaga  
1681 aacgagctga gggccatctt tgccgcgag caggccaagt ccaagctgta atctagagcg gccgccaga catgataaga  
1761 tacattgatg agtttgaca aaccacaact agaatgcagt gaaaaaatg ctttatttgt gaaatttgt atgctattgc  
1841 tttatttgt accattataa gctgcaataa acaagttaac aacaacaatt gcattcattt tatgtttcag gttcagggg  
1921 aggtgtggga ggttttttaa agcaagtaaa acctctacaa atgtggtatg gagctccgc ggcccggggg atcctcaaat  
2002 atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc aataatattg aaaaaggag agtatgagta ttcaacattt  
2081 ccgtgtcgcc ctattccct tttttgcggc attttgcctt cctgtttttg ctcaccaga aacgctggtg aaagtaaaag  
2161 atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtg gttacatcga actggatctc aacagcgga agatcctga gattttcgc  
2241 cccgaagaac gttttccaat gatgagcact tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tcccgtattg acgcccggga  
2321 agagcaactc ggtcgccgca tacactatc tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag catcttacgg  
2401 atggcatgac agtaagagaa ttatgcagt ctgccataac catgagtatg aacactcgg ccaacttact tctgacaacg  
2481 atcgaggac cgaaggagct aaccgctttt ttgcacaaca tgggggatca tgtaactgc cttgatcgtt gggaaccgga  
2561 gctgaatgaa gccatacaca acgacgagcg tgacaccacg atgcctgtag caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa  
2641 ctggcgaact acttactcta gcttcccgcc aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg  
2721 cgctcgccc ttccggtg ctggtttatt gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgcggtg tcatgagc  
2801 actggggcca gatgtaagc cctcccgtat cgtagtattc tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat gaacgaaata  
2881 gacagatcg tgagataggt gcctcactga ttaagcattg gtaactgtca gaccaagttt actcatatat actttagatt  
2961 gatttaaaac ttcattttta atttaaaagg atctaggtag agatcctttt tgataatctc atgacaaaaa tcccttaacg  
3041 tgagttttc ttccactgag cgtcagaccc cgtagaaaag atcaaaggat cttcttgaga tccctttttt ctgcggttaa  
3121 tctgtgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggg ggtttgtttg ccgatcaag agctaccaac tctttttccg  
3201 aaggtaactg gcttcagcag agcgcagata ccaataactg ttcttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa  
3281 ctctgtagca cgcctacat acctcgctct gctaactcctg ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag tctgtcttta  
3361 ccgggttgga ctcaagacga tagttaccgg ataaggcgca gcgctcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc  
3441 ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc acgcttcccg aaggagaaa  
3521 ggcggacagg tatccggtaa gcggcagggt cggaacagga gagcgacga gggagcttcc agggggaac gcctggtatc  
3601 tttatagtcc tctcggttt cgcacacctt gacttgagcg tctgattttg tgatgctcgt caggggggag gagcctatgg  
3681 aaaaacgcca gcaacgcggc ctttttacgg ttcttggcct tttgctggcc ttttgcac atgttctttc ctgcggtacc  
3761 gatcataatc agccatacca cattttaga ggttttactt gctttaaaaa acctcccaca cctccccctg aacctgaaac  
3841 ataaaatgaa tgcaattgtt gttgttaact tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaat  
3921 ttcacaaata aagcattttt ttcactgcat tctagtgtg gttgttccaa actcatcaat gtatcttct atgtctggat  
4001 cataatcagc cataccacat ttgtagaggt tttacttgc ttaaaaaacc tcccacacct cccctgaac ctgaaacata  
4081 aaatgaatgc aattgttgtt gtttaactgt ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat cacaatttc  
4161 acaataaag cattttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tottatcatg tctg

### (3) pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

表 1. pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control ベクターを 1～5 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Aat</i> I	1	188	<i>Bsr</i> DI	2	3029 3211	<i>Nsi</i> I	2	2242 2314
<i>Acc</i> 65I	1	4174	<i>Bsr</i> GI	1	553	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Acc</i> I	1	448	<i>Bss</i> SI	2	2601 3985	<i>Pci</i> I	1	4158
<i>Ac</i> /I	2	2667 3040	<i>Bst</i> API	2	2244 2316	<i>Psh</i> BI	1	3094
<i>Afl</i> III	2	213 4158	<i>Bst</i> XI	1	268	<i>Psp</i> 1406I	2	2667 3040
<i>Ahd</i> I	1	3265	<i>Bst</i> ZI	2	243 1915	<i>Psp</i> AI	1	2402
<i>Alw</i> 44I	2	2598 3844	<i>Bsu</i> 36I	1	377	<i>Psp</i> OMI	1	355
<i>Alw</i> NI	2	750 3744	<i>Cfr</i> 9I	1	2402	<i>Pst</i> I	1	261
<i>Apa</i> I	1	355	<i>Drd</i> I	1	4050	<i>Pvu</i> I	1	2898
<i>Apa</i> LI	2	2598 3844	<i>Eag</i> I	2	243 1915	<i>Pvu</i> II	1	443
<i>Ase</i> I	1	3094	<i>Eam</i> 1105I	1	3265	<i>Sac</i> I	1	2390
<i>Ava</i> I	2	1 2402	<i>Ecl</i> HKI	1	3265	<i>Sac</i> II	1	2396
<i>Avi</i> II	1	3045	<i>Eco</i> 52I	2	243 1915	<i>San</i> DI	1	313
<i>Avr</i> II	1	191	<i>Eco</i> 81I	1	377	<i>Sca</i> I	1	2787
<i>Axy</i> I	1	377	<i>Eco</i> ICRI	1	2390	<i>Sex</i> AI	2	1606 2292
<i>Bal</i> I	2	1201 1246	<i>Eco</i> RI	1	255	<i>Sfi</i> I	1	137
<i>Bam</i> HI	1	2408	<i>Eco</i> RV	1	249	<i>Sgr</i> AI	2	1205 1694
<i>Bbs</i> I	2	1337 1815	<i>Eco</i> T22I	2	2242 2314	<i>Sma</i> I	1	2402
<i>Bcg</i> I	1	2743	<i>Fsp</i> I	1	3045	<i>Spe</i> I	1	237
<i>Bgl</i> I	2	138 3146	<i>Hind</i> III	1	207	<i>Ssp</i> I	1	2463
<i>Bln</i> I	1	191	<i>Kpn</i> I	1	4174	<i>Stu</i> I	1	188
<i>Bsa</i> AI	1	1368	<i>Mlu</i> I	1	213	<i>Tfi</i> I	2	1066 1108
<i>Bso</i> BI	2	1 2402	<i>Msc</i> I	2	1201 1246	<i>Vsp</i> I	1	3094
<i>Bsp</i> 1407I	1	553	<i>Nco</i> I	1	274	<i>Xba</i> I	1	1908
<i>Bsp</i> CI	1	2898	<i>Nhe</i> I	1	219	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> MI	2	1299 836	<i>Not</i> I	1	1914	<i>Xma</i> I	1	2402

表 2. pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Bae</i> I	<i>Bae</i> I
<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfi</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I	<i>Bsp</i> DI
<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cla</i> I
<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I
<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I
<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I
<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I							

#### pSLG-SV40 control ベクター配列

```

1  ctcgagatct goatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc gccctaact cgcgccatcc cgcccctaac tccgccagtt
81  tccgccattt ctccgcccc tgcgtgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt
161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcatgc agatctacta
241 gtcggccgga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatggc taacgagatc atcctgcacg gcgccaagcc cagggacccc
321 ctggacctgg gcaccgcgg cattcagctc tacagggccc tgaccaactt ctccttcctg agggaggccc tgatcgacgc
401 ccacaccgag gaggtggtgt ctacgccga catcctggag aacagctgta gactggctaa gtgctacgag aactacggcc
481 tgcgccagaa cagcgtgatc tccgtgtgca gcgagaatag caccatcttc ttctacccc tgatcgccgc cctgtacatg
561 ggcgtgatca cgcaccctg gaacgacagc tacaccgagc gggagctgct ggagaccctg aacatctcca agcccgaact
641 ggtgtttctg tocaagaagg ccatcaagaa catgatggcc ctgaagagga acgtgaactt catcaagaag gtggtgctgc
721 tggacagcaa ggaggatag ggcgaggccc agtgccctag caacttcattg gcccggtact ccgagcccaa cctggacgtg
801 agaaacttca agccaaggga cttcgacgcc aaggagcagg tggcccttat tatgtcctcc tctggcacca ccggcctgcc

```

```

881 aaagggcgtg gtgctgaccc acaggaacct gagcgtgcgc ttctgccact gcaaggaccc cctgttcggc accagaacca
961 tccccctccac ctccatctcg tccatcgtgc ccttccacca cgccttcgga atgttcacaa cctgttccta ctcatcgtg
1041 ggccctgagag tgggtgctgt gaagagattc gaggagaagt tcttctgag caccatcgag aagtacagaa tcccaacaat
1121 cgtgtcggcc cctcctgtga tgggtttcct ggctaagagc cccctgggtg accagtacga cctgtccagc atcagagagg
1201 tggccaccgg cggcgccctt gtgggcaccg aggttgccgt ggccgtggcc aagcggctga agatcggcgg catcctccag
1281 ggctacggcc tgaccgagac ctgctgcgcc gtgctgatca cccccacga cgacgtgaag accggctcca cggcgagggt
1361 agccccctac gtgcaggcta agatcgtgga cctgaccacc ggcaagtcct tgggacctaa caagagaggc gagctgtgct
1441 tcaagagcga gatcatcatg aagggtact tcaacaacaa gcaggccacc gaggaggcca tcgacaagga gggctggctg
1521 cactccggcg acgtgggata ctacgacgac gatggacatt tcttcgtggt ggaccggctg aaagagctga tcaagtacaa
1601 gggctaccag gtggcccccg ccgagctgga gtggctgctg ctccagcacc catccatcaa ggatgccggc gtgaccggcg
1681 tgcccgacga ggccgcccgg gagctgcccg gcgcctgcat cgtgctccag gagggcaaga gcctgaccga gcaggagatc
1761 atcgactaca tcgccgagcg agtgtctccc accaagcgca tcggggcgag agtctcttcc gtggacgaca tcccaagggt
1841 cgccaccggc aagctggtga gaagcgagct gcggaagctg ctggcccaga agaagtccaa gctgtaatct agagcggccg
1921 cccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaag aaaatgcttt atttgtgaaa
2001 ttttgtatgc tattgcttta ttgttaacca ttataagctg caataaacaa gttaacaaca acaattgcat tcattttatg
2081 tttcaggttc agggggagggt gtgggagggt ttttaaagca agtaaaacct ctacaaatgt ggtagatctg aacgatggag
2161 cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcgaggtta gggcggggac tatggttgct gactaattga
2241 gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg
2321 ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagcg agctcccgcg
2401 gccccgggga tctcaataa tgtatccgct catgagacaa taacctgat aaatgcttca ataatttga aaaaggaaga
2481 gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgoggca ttttgcttc ctgtttttgc tcaccagaa
2561 acgctggtga aagtaaaaga tgtgaagat cagttgggtg cagcagtggt ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa
2641 gatccttag agttttcgcc ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt ttaaagtctt gctatgtggc gcggtattat
2721 cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgat acactattct cagaatgact tggttagta ctaccagtc
2801 acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc tgccataacc atgagtata aactgcggc
2881 caacttactt ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc
2961 ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccagc tgctgtagc aatggcaaca
3041 acgttgcgca aactattaac tggcgaacta ctactctag cttcccgcca acaattaata gactggatgg aggcggataa
3121 agttgcagga ccacttctgc gctcgccctt tccgctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt
3201 ctgcgggat cattgcagca ctggggccag atggaagcc ctcccgatc gtagttatct acacgacggg gactcaggca
3281 actatggatg aacgaaatag acagatcgt gagataggtg cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttaa
3361 ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttta tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca
3441 tgacaaaaat ccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat
3521 cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct accagcgggt gtttgtttgc cggatcaaga
3601 gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaataactgt tcttctagt tagccgtagt
3681 taggccacca cttcaagaac tctgtagcac gcctacata cctcgtcttg ctaatcctgt taccagtggc tgcgtccagt
3761 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga taaggcgag cggtcgggct gaacgggggg
3841 ttctgtcaca cagcccagct tggagcgaa cgcctacacc gaactgagat acctacagc tgagctatga gaaagcgcca
3921 cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca
4001 gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggttcc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctctgc
4081 agggggcgag agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcttgccctt ttgctggcct tttgctcaca
4161 tgttcttttc tgcggtaccg atcataatca gccataccac attttagag gttttacttg ctttaaaaaa cctccacac
4241 ctccccctga acctgaaaca taaaatgaat gcaattgttg ttgttaactt gtttattgca gottataatg gttacaaata
4321 aagcaatagc atcacaatc tcacaaataa agcatttttt tcaactgcatt ctagtgtgg tttgtccaaa ctcatcaatg
4401 tatcttatca tgtctggatc ataatacagc ataccacatt ttagaggtt ttacttgctt taaaaaacct cccacacctc
4481 cccctgaacc tgaaacataa aatgaatgca attgttgtt ttaacttgtt tattgcagct tataatggtt acaataaag
4561 caatagcacc acaatttca caaataaagc atttttttca ctgcattcta gttgtggtt gtccaaactc atcaatgtat
4641 cttatcatgt ctg

```

#### pSLO-SV40 control ベクター配列

```

1 ctcgagatct gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc gccctaact ccgccatcc cgcccctaac tccgccagtc
81 tccgcccatt ctccgcccc tcgctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt
161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcatgc agatctacta
241 gtcggccgga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatggc taacgagatc atcctgcacg gcgccaagcc cagggacccc
321 ctggacctgg gcaccgccc cattcagctc tacaggggcc tgaccaactt ctccttcctg agggaggccc tgatcgacgc

```

401 ccacaccgag gaggtggtgt cttacgccga catcctggag aacagctgta gactggctaa gtgctacgag aactacggcc  
481 tgcgccagaa cagcgtgatc tccgtgtgca gcgagaatag caccatcttc ttctacccc tgatcgccgc cctgtacatg  
561 ggctgatca ccgccaccgt gaacgacagc tacaccgagc gggagctgct ggagaccctg aacatctcca agccgaact  
641 ggtgttctgc tocaagaagg ccatcaagaa catgatggcc ctgaagagga acgtgaactt catcaagaag gtggtgctgc  
721 tggacagcaa ggaggatatg ggcgaggccc agtgctgag caacttcatg gcccggtact ccgagcccaa cctggacgtg  
801 agaaaactta agccaaggga cttcgacgcc aaggagcagg tggcccttat tatgtctcc tctggacca ccggcctgcc  
881 aaaggcggtg gtgctgaccc acaggaacct gagcgtgcgc ttctgccact gcaaggaccc cctgttcggc aacagaacca  
961 tcccctccac ctccatcctg tccatcgtgc ccttcacca cgccttcgga atgttcacaa cctgttccta cttcatcgtg  
1041 ggcttgagag tgggtgctgt gaagagattc gaggagaagt tcttcctgag caccatcgag aagtacagaa tcccaacaat  
1121 cgtgtcggcc cctcctgtga tgggtttcct ggctaagagc cccctgggtg accagtacga cctgtccagc atcagagagg  
1201 tggccaccgg cggcgccct gtgggcaccg aggttgccgt ggccgtggcc aagcggtga agatcgccgg catcctccag  
1281 ggctacggcc tgaccgagac ctgctgcgcc gtgctgatca cccccacga cgacgtgaag accggctcca ccggcagggt  
1361 agccccctac gtgcaggcta agatcgtgga cctgaccacc ggcaagtccc tgggacctaa caagagaggc gagctgtgct  
1441 tcaagagcga gatcatcatg aagggtact tcaacaacaa gcaggccacc gaggaggcca tcgacaagga gggctggctg  
1521 cactccggcg acgtgggata ctacgacgac gatggacatt tcttcgtggt ggaccggctg aaagagctga tcaagtacaa  
1601 gggctaccag gtggccccc cggagctgga gtggctgctg ctccagcacc catccatcaa ggatgccggc gtgaccggcg  
1681 tgcccgacga ggccgcccgc gagctgcccg gcgctgcat cgtgtccag gagggaaga gcctgaccga gcaggagatc  
1761 atcgactaca tcgccgagcg agtgtctccc accaagcgca tccggggcgg agtcgtcttc gtggacgaca tcccaaggg  
1841 cgccaccggc aagctggtga gaagcgagct gcggaagctg ctggcccaga agaagtccaa gctgtaatct agagcggccg  
1921 cccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaag aaaatgcttt atttgtgaaa  
2001 tttgtgatgc tattgcttta ttgttaacca ttataagctg caataaaca gttacaaca acaattgcat tcattttatg  
2081 tttcaggttc agggggagggt gtgggagggt ttttaaagca agtaaaacct ctacaaatgt ggtagatctg aacgatggag  
2161 cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcgaggtta gggcggggac tatggttgct gactaattga  
2241 gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg  
2321 ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagcg agctcccgcg  
2401 gcccggggga toctcaaata tgtatccgt catgagacaa taacctgat aaatgcttca ataatttga aaaaggaaga  
2481 gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccct ttttgcggca ttttgccttc ctgtttttgc taccagaa  
2561 acgctggtga aagtaaaaga tgtgaagat cagttgggtg cagcagtggt ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa  
2641 gatccttgag agttttcgcc ccgaagaacg tttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat  
2721 cccgtattga cgcgggcaa gagcaactcg gtcgccgat acactattct cagaatgact tggttagta ctcaccagtc  
2801 acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc tgccataacc atgagtata aactgcggc  
2881 caacttactt ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc  
2961 ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccagca tgctgtagc aatggcaaca  
3041 acgttgcgca aactattaac tggcgaacta ctactctag cttcccgga acaattaata gactggatgg agcgggataa  
3121 agttgcagga ccacttctgc gctcgccct tccggtggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt  
3201 ctgcgggtat cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctccgctatc gtagttatct acacgacggg gagtcaggca  
3281 actatggatg aacgaaatag acagatcgt gagataggt cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttta  
3361 ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttta tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca  
3441 tgacaaaat ccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaggatc ttcttgagat  
3521 cttttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaacaa aaccaccgt accagcgggt gtttgtttgc cggatcaaga  
3601 gctaccaact ctttttccga aggttaactg cttcagcaga gcgagatac caaatactgt tcttctagt tagccgtagt  
3681 taggccacca cttcaagaac tctgtagcac gcctacata cctcgtctg ctaatcctgt taccagtggc tgcgtccagt  
3761 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttgga tcaagacgat agttaccgga taaggcgag cggctgggct gaacggggg  
3841 ttctgtcaca cagcccagct tggagcgaa gacctacacc gaactgagat acctacagc tgagctatga gaaagcgcca  
3921 cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtga cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca  
4001 gggggaaacg cctggtatct ttatagtcc gtccgggttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc  
4081 agggggcg agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc ttttacggt tcttgccct ttgctggcct tttgctcaca  
4161 tgttctttcc tgcggtaccg atcataatca gccataccac attttagag gttttacttg ctttaaaaa cctccacac  
4241 ctccccctga acctgaaaca taaaatgaat gcaattgttg ttgttaactt gtttattgca gottataatg gttacaaata  
4321 aagcaatagc atcacaat tcaaaaataa agcatttttt tcaactgcatt ctagtgtgg tttgtccaaa ctcatcaatg  
4401 tatcttatca tgtctggatc ataatacagc ataccacatt tgtagagggt ttacttgctt taaaaacct cccacacctc  
4481 cccctgaacc tgaacataa aatgaatgca attgtgttg ttaacttgtt tattgcagct tataatggtt acaataaag  
4561 caatagcatc acaatttca caaataaagc atttttttca ctgcattcta gttgtggtt gtccaaactc atcaatgtat  
4641 cttatcatgt ctg

#### (4) pSLR-SV40 control

表 1. pSLR-SV40 control ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Aat</i> I	1	188	<i>Bsu</i> 36I	1	879	<i>Nsi</i> I	2	2251 2323
<i>Acc</i> 65I	1	4183	<i>Csp</i> 45I	1	435	<i>Nsp</i> V	1	435
<i>Ac</i> /I	2	2676 3049	<i>Cbi</i> I	1	435	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	2	1255 3274	<i>Cfr</i> 9I	1	2411	<i>Pci</i> I	1	4167
<i>Alw</i> 44I	2	2607 3853	<i>Drd</i> I	1	4059	<i>Ple</i> I	2	3280 3797
<i>Apa</i> LI	2	2607 3853	<i>Eag</i> I	2	243 1924	<i>Psh</i> BI	1	3103
<i>Ase</i> I	1	3103	<i>Eam</i> 1104I	2	282 2485	<i>Psp</i> 1406I	2	2676 3049
<i>Avi</i> II	1	3054	<i>Eam</i> 1105I	2	1255 3274	<i>Psp</i> AI	1	2411
<i>Avr</i> II	1	191	<i>Ear</i> I	2	282 2485	<i>Pvu</i> I	2	302 2907
<i>Axy</i> I	1	879	<i>Ec</i> /HKI	2	1255 3274	<i>Pvu</i> II	2	345 1704
<i>Bam</i> HI	1	2417	<i>Eco</i> 52I	2	243 1924	<i>Sac</i> I	1	2399
<i>Bbe</i> I	1	1347	<i>Eco</i> 81I	1	879	<i>Sac</i> II	1	2405
<i>Bbs</i> I	1	1088	<i>Eco</i> ICR I	1	2399	<i>Sbf</i> I	1	1274
<i>Bbv</i> CI	1	1871	<i>Eco</i> O65I	1	1784	<i>Sca</i> I	1	2796
<i>Bci</i> VI	2	2431 3958	<i>Eco</i> RI	1	255	<i>Sex</i> AI	2	1609 2301
<i>Bcl</i> I	2	847 892	<i>Eco</i> RV	1	249	<i>Sfi</i> I	1	137
<i>Bln</i> I	1	191	<i>Eco</i> T14I	2	191 274	<i>Sfo</i> I	1	1347
<i>Bsa</i> I	2	3207 1296	<i>Eco</i> T22I	2	2251 2323	<i>Sgf</i> I	1	301
<i>Bse</i> RI	2	172 1129	<i>Ehe</i> I	1	1347	<i>Sgr</i> AI	1	1526
<i>Bsp</i> 1407I	1	589	<i>Fba</i> I	2	847 892	<i>Sma</i> I	1	2411
<i>Bsp</i> CI	2	302 2907	<i>Fsp</i> I	1	3054	<i>Spe</i> I	1	237
<i>Bsp</i> MI	1	1801	<i>Hind</i> III	1	207	<i>Sse</i> 8387I	1	1274
<i>Bsr</i> DI	2	3038 3220	<i>Kas</i> I	1	1347	<i>Ssp</i> I	1	2472
<i>Bsr</i> GI	1	589	<i>Kpn</i> I	1	4183	<i>Stu</i> I	1	188
<i>Bss</i> SI	2	2610 3994	<i>Lsp</i> I	1	435	<i>Sty</i> I	2	191 274
<i>Bst</i> API	2	2253 2325	<i>Mlu</i> I	2	213 787	<i>Vsp</i> I	1	3103
<i>Bst</i> BI	1	435	<i>Mly</i> I	2	3797 3280	<i>Xba</i> I	1	1917
<i>Bst</i> EII	1	1784	<i>Nar</i> I	1	1347	<i>Xcm</i> I	2	1153 1492
<i>Bst</i> PI	1	1784	<i>Nco</i> I	1	274	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bst</i> XI	1	268	<i>Nhe</i> I	1	219	<i>Xma</i> I	1	2411
<i>Bst</i> ZI	2	243 1924	<i>Not</i> I	1	1923	<i>Xmn</i> I	1	2675

表 2. pSLR-SV40 control ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apal</i>	<i>Asc</i> I
<i>Bae</i> I	<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I
<i>Bsp</i> DI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cla</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I
<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O109I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I
<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OMI	<i>Rsr</i> II
<i>Sal</i> I	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I		

#### pSLR-SV40 control ベクター配列

```

1  ctcgagatct gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc gccctaact cgcgccatcc gcgccctaac tcgcccagct
81  tcgcccattt ctcgccccta tcgctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt
161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcgatgc agatctacta
241 gtcggcgcga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatgga agaagagaac atcgtgaatg gogatcgccc tcgggatctg
321 gtgttccctg gcacagccgg cctgcagctg tatcagtcct tgtataaata ctcttacatc accgacggaa tcacgcagcg
401 ccacaccaac gaggtgatct cctatgccca gattttcgaa acaagttgcc gcctggccgt gaggcctggag aagtatggcc
481 tggatcacaa caacgtgggt gccatttgca gcgagaacaa catccacttc ttcgccctc tgatcgctgc cctataccag
561 gggattccaa tggccacatc caacgatatg tacaccgaga gggagatgat cggccacctg aacatctcca agccatgtct

```

641 gatgttctgt tocaagaagt ccctgccatt catcctgaag gtgcagaagc acctggactt tctcaagaag gtgatcgtga  
721 tcgacagcat gtacgacatc aacggcgtgg agtgcgtgtt cagtttcgtg tcccgggtaca ccgatcatgc gttcgatcca  
801 gtgaagttca accctaaga gtttgatccc ctggagagaa ccgcgtgat catgacatcc tctggaacaa ccggcctgcc  
881 taaggcggtg gtgatcagcc acaggagcat caccatcaga ttctgccaca gcagcgatcc catctacggc acccgcatcg  
961 cccagatac atccatcctg gccatcgccc ctttccacca cgccttogga ctgtttaccg ccctggctta ctttccagt  
1041 ggccctgaaga tcgtgatggt gaaaaagttt gagggcgagt tcttctgaa gaccatccag aactacaaga tcgcttctat  
1121 cgtgtgtcct cctccaatca tgggtgtatct ggccaagagc cctctgggtg atgagtacaa tctgtccagc ctgacagaga  
1201 tcgctgtgtg cggctcccct ctgggcagag acatcgccga caaggtggcc aagagactga aggtccacgg catcctgcag  
1281 ggctatggcc tgaccgagac ctgtagcgcc ctgatcctga gcccacga tagagagctg aagaaggcg ccacggcac  
1361 ccctatgccc tatgtccagg tgaaggtgat tgacatcaac accggcaaag ccctgggacc aagagagaag ggcgagattt  
1441 gcttcaagag ccagatgctg atgaagggt accacaacaa cccacaggcc accagggtg ccctggacaa ggacgggtg  
1521 ctgcacaccg cagatctggg ctactacgac gaggacagat tcatctatgt ggtggatcgg ctgaaagaac tcatcaagta  
1601 caagggtac caggtggccc ctgccgagct ggagaacttg cttctgcagc accctaact ctctgatgcc ggcgtcatcg  
1681 gcatcccaga cgagtttgcc ggccagctgc cttccgctg tgtcgtgtg gagcctggca agacctgac cgagaaggag  
1761 gtgcaggatt atatcgccga gctggtgacc accaccaagc acctcgggg cggcgtggtg ttcacgaca gcattccga  
1841 aggcccaaca ggcaagctga tgagaaacga gctgagggcc atctttgcc gcgagcaggc caagtccaag ctgtaata  
1921 gagcgccgc ccagacatga taagatacat tgatgagttt ggacaaacca caactagaat gcagtgaata aatgcttta  
2001 tttgtgaat ttgtgatgct attgctttat ttgtaacct tataagctgc aataaacaag ttaacaacaa caattgcatt  
2081 cttttatgt ttcaggttca gggggaggtg tgggaggtt tttaaagca gtaaacctc tacaatgtg gtagatctga  
2161 acgatggagc ggagaatggg cggaaactggg cggagttagg ggcgggatgg gcggagttg ggcgggact atggttgctg  
2241 actaattgag atgcatgctt tgcatactc tgcctgctgg ggagcctgg gactttccac acctggttgc tgactaattg  
2321 agatgcatgc ttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acaccctaac tgacacacat tccacagcga  
2401 gctcccgccg cccgggggat cctcaaatat gtatccgctc atgagacaat aacctgata aatgcttcaa taatattgaa  
2481 aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgccct tattccctt tttgaggcat tttgccttcc tgtttttgct  
2561 caccagaaa cgctgtgtaa agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc acgagtggt tacatcgaa tggtatctaa  
2641 cagcggtaa atccttgaga gttttcgccc cgaagaact tttccaatga tgagcactt taaagtctg ctatgtggcg  
2721 cggattatc ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgccgata cactattctc agaattgact ggttgagtac  
2801 tcaccagtca cagaaaagca tcttacgat ggcatgacag taagagaatt atgcagtgt gccataacca tgagtataa  
2881 cactcgccgc aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgcttttt gcacaacatg ggggatcatg  
2961 taactcgct tgatcgttg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat gcctgtagca  
3041 atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggcgaactac ttactctagc ttcccgcaa caattaatag actggatgga  
3121 ggcggataaa gttgcaggac cacttctgcg ctccggcctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct ggagccgtg  
3201 agcgtgggtc tcgcgtatc attgcagcac tggggccaga tggtaaagcc tccgtatcg tagttatcta cagcagggg  
3281 agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgctg agatagggtg ctactgatt aagcattggt aactgtcaga  
3361 ccaagtttac tcatatatac tttagattga tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctagggtgaag atcctttttg  
3441 ataactcat gaccaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct  
3521 tcttgagatc ctttttttct gcgcgtaatc tgcgtcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcggtg tttgtttgcc  
3601 ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt cttctagtgt  
3681 agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctgcctctgc taatcctgtt accagtggct  
3761 gctgccagtg cagataagtc gtgtcttacc ggttggact caagacgata gttaccgat aaggcgcagc ggtcgggctg  
3841 aacggggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagctatgag  
3921 aaagcggcac gcttccgaa gggagaaagg cggacaggtg tccgtaagc ggaggggtcg gaacaggaga gcgcacagg  
4001 gagcttccag ggggaaacgc ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc gattttttg  
4081 atgctcgtca gggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggcctt tgcgtggcct  
4161 ttgctcatc gttctttct gcggtaccga tcataatcag ccataccaca tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac  
4241 ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg caattgttgt tgtaacttg tttattgcag cttataatgg  
4321 ttacaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataa gcatttttt cactgcattc tagttgttgt ttgtccaaac  
4401 tcatcaatgt atcttatcat gtctggatca taatcagcca taccacattt gtagagggtt tacttgctt aaaaaacctc  
4481 ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt taacttgtt attgcagctt ataattggtta  
4561 caaataaagc aatagcatca caaatctcac aaataaagca ttttttcac tgcattctag ttgtggtttg tccaaactca  
4641 tcaatgtatc ttatcatgtc tg



## (5) pSLG-HSVtk control

表 1. pSLG-HSVtk ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3959	<i>Bsr</i> DI	2	2814 2996	<i>Not</i> I	1	1942
<i>Acc</i> I	1	476	<i>Bsr</i> GI	1	581	<i>Nsp</i> V	1	127
<i>Ac</i> /I	2	2452 2825	<i>Bss</i> SI	2	2386 3770	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	1	3050	<i>Bst</i> BI	1	127	<i>Pci</i> I	1	3943
<i>Alw</i> 44I	2	2383 3629	<i>Bst</i> XI	1	296	<i>Psp</i> AI	1	2187
<i>Alw</i> NI	2	778 3529	<i>Bst</i> ZI	2	271 1943	<i>Psp</i> OMI	1	383
<i>Apa</i> I	1	383	<i>Bsu</i> 36I	1	405	<i>Pst</i> I	2	217 289
<i>Apa</i> LI	2	2383 3629	<i>Cbi</i> I	1	127	<i>Psh</i> BI	1	2879
<i>Ase</i> I	1	2879	<i>Cfr</i> 9I	1	2187	<i>Psp</i> 1406I	2	2452 2825
<i>Ava</i> I	2	1 2187	<i>Csp</i> 45I	1	127	<i>Pvu</i> I	1	2683
<i>Avi</i> II	1	2830	<i>Drd</i> I	1	3835	<i>Pvu</i> II	1	471
<i>Axy</i> I	1	405	<i>Eag</i> I	2	271 1943	<i>Sac</i> I	1	2175
<i>Bal</i> I	2	1229 1274	<i>Eam</i> 1105I	1	3050	<i>Sac</i> II	1	2181
<i>Bam</i> HI	1	2193	<i>Ecl</i> HKI	1	3050	<i>San</i> DI	1	341
<i>Bbs</i> I	2	1365 1843	<i>Eco</i> 52I	2	271 1943	<i>Sca</i> I	1	2572
<i>Bbu</i> I	1	253	<i>Eco</i> 81I	1	405	<i>Sex</i> AI	1	1634
<i>Bcg</i> I	1	2528	<i>Eco</i> ICRI	1	2175	<i>Sgr</i> AI	2	1233 1722
<i>Bgl</i> I	1	2931	<i>Eco</i> RI	2	124 283	<i>Sma</i> I	1	2187
<i>Bgl</i> II	1	259	<i>Eco</i> RV	1	277	<i>Spe</i> I	1	265
<i>Bmr</i> I	2	3005 776	<i>Fsp</i> I	1	2830	<i>Sph</i> I	1	253
<i>Bsa</i> AI	1	1396	<i>Hind</i> III	1	235	<i>Ssp</i> I	1	2248
<i>Bsa</i> BI	2	3965 4202	<i>Kpn</i> I	1	3959	<i>Tfi</i> I	2	1094 1136
<i>Bso</i> BI	2	1 2187	<i>Lsp</i> I	1	127	<i>Vsp</i> I	1	2879
<i>Bsp</i> 1407I	1	581	<i>Mlu</i> I	2	188 241	<i>Xba</i> I	1	1936
<i>Bsp</i> CI	1	2683	<i>Msc</i> I	2	1229 1274	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> MI	2	1327 864	<i>Nco</i> I	1	302	<i>Xma</i> I	1	2187
<i>Bsr</i> BRI	2	3965 4202	<i>Nhe</i> I	1	247			

表 2. pSLG-HSVtk ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bae</i> I	<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bin</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI
<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I	<i>Bsp</i> DI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI
<i>Bst</i> Z17I	<i>Cla</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I
<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI
<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI
<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I				

## pSLG-HSVtk ベクター配列

```

1  ctcgagctgc ttcatccccg tggcccgttg ctcgcgtttg ctggcgggtgt ccccggaaga aatatatttg catgtcttta
81  gttctatgat gacacaaacc ccgcccagcg tcttgtcatt ggcgaaatcg aacacgcaga tgcagtcggg gcggcgcggg
161  cccaggtcca cttcgcatat taaggtgaag cgtgtggcct cgaacaccga ggcacctgc agcagccgcg ttaaagcgtt
241  acgcgtgcta ggcgatgcag atctactagt cggccggata tcgaattcct gcagcccacc accatggcta acgagatcat
321  cctgcacggc gccaaagcca gggaccccct ggacctgggc accgcgggca ttcagctcta caggggccctg accaacttct
401  ccttctctgag ggaggccctg atcgacgccc acaccgagga ggtggtgtct tacgccgaca tcttgagaa cagctgtaga
481  ctggctaagt gctacgagaa ctacggcctg cgcagaaca gcgtgatctc cgtgtgcagc gagaatagca ccatcttctt
561  ctaccccgctg atcgccgccc tgtacatggg cgtgatcacc gccaccgtga acgacagcta caccgagcgg gagctgctgg
641  agaccctgaa catctccaag ccgaactgg tgtctgtctc caagaaggcc atcaagaaca tgatggccct gaagaggaac
721  gtgaacttca tcaagaaggt ggtgctgctg gacagcaagg aggatattgg cgaggcccag tgccctagca acttcatggc
801  ccggtactcc gagcccaacc tggacgtgag aaacttcaag ccaagggact tcgacgcaa ggagcagggt gcccttatta

```

881 tgtcctcctc tggcaccacc ggccctgccaa agggcgtggt gctgaccac aggaacctga gcgtgcgctt cgtccactgc  
961 aaggaccccc tgttcggcac cagaaccatc cctccacct ccatcctgtc catcgtgcc ttccaccacg ccttcggaat  
1041 gttcacaacc ctgtcctact tcatcgtggg cctgagagt gtgtgtctga agagattoga ggagaagttc ttctgagca  
1121 ccatcgagaa gtacagaatc ccaacaatcg tctgtgcccc tctgtgatg gtgttcctgg ctaagagccc cctggtggac  
1201 cagtacgacc tgtccagcat cagagagggt gccaccggcg gcgcccctgt gggcaccgag gttgccgtgg ccgtggccaa  
1281 gcggctgaag atcggcggca tcctccaggg ctacggcctg accgagacct gctgcgccgt gctgatcacc ccccacgacg  
1361 acgtgaagac cggctccacc ggcagggtag cccctacgt gcaggctaag atcgtggacc tgaccaccgg caagtccctg  
1441 ggacctaaac agagaggcga gctgtgcttc aagagcgaga tcatcatgaa gggctacttc aacaacaagc aggccaccga  
1521 ggaggccatc gacaaggagg gctggctgca ctccggcgac gtgggatact acgacgacga tggacatttc ttctgtgtgg  
1601 accggtgtaa agagctgatc aagtacaagg gctaccaggt ggcccccgcc gagctggagt ggctgtgct ccagcaccca  
1681 tccatcaagg atgccggcgt gaccggcgtg cccgacgagg ccgcccggca gctgcccgcc gcctgcatcg tgcctcagga  
1761 gggcaagagc ctgaccgagc aggagatcat cgaactacat gccgagcgag tgtctccac caagcgcatc cggggcggag  
1841 tcgtcttcgt ggacgacatc ccaaggcg ccaccggcaa gctggtgaga agcgagctgc ggaagctgct ggcccagaag  
1921 aagtccaagc tgtaatctag agcggccgcc cagacatgat aagatacatt gatgagttt gacaaaccac aactagaatg  
2001 cagtgaaaaa aatgctttat ttgtgaaatt tgtgatgcta ttgctttatt tgtaaccatt ataagctgca ataaacaagt  
2081 taacaacaac aattgcattc attttatgtt tcaggttcag ggggagggtgt gggagggttt ttaaagcaag taaaacctct  
2161 acaaatgttg tatggagctc ccgcgcccg ggggatcctc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg  
2241 cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgccttatt ccttttttg cggcattttg  
2321 ccttcctgtt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggtgacga gtgggttaca  
2401 tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgcccga gaacgttttc caatgatgag cacttttaaa  
2481 gttctgctat gtggcgcggt attatccgt attgacgcg ggcaagagca actcgtgc cgcatacact attctcagaa  
2561 tgacttggtt gactactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgcgccca  
2641 taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc tttttgcac  
2721 aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaaccagc agcgtgacac  
2801 cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat  
2881 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccg ctggctggtt tattgctgat  
2961 aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt  
3041 tatctacacg acggggagtc aggcaactat gtagtaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc  
3121 attgtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt ttttaattaa aaggatctag  
3201 gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga  
3281 aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt tttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag  
3361 cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactcttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat  
3441 actgttcttc tagttagacc gtagttagc caccacttca agaactctgt agcaccgct acatacctcg ctctgcta  
3521 cctgttacca gtggctgctg ccagtggcg taagtctgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg  
3601 cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct acaccgaact gagataccta  
3681 cagcgtgagc tatgagaaag cgcacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaaggcgca gggctcggaac  
3761 aggagagcgc acgaggagc ttccagggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg  
3841 agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaac cggccttttt acggttccctg  
3921 gccttttgct ggccctttgc tcacatgttc tttctgcgg taccgatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt  
4001 acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggtgtt aacttgttta  
4081 ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttcaact gcattctagt  
4161 tgtggtttgt ccaaatcat caatgtatct tatcatgtct ggatcataat cagccatacc acattttag aggttttact  
4241 tgctttaaaa aacctccac acctccccc gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgttgtaaac ttgtttattg  
4321 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaaat aaagcatttt tttactgca ttctagttgt  
4401 gggttgcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctg

## (6) pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test

表1. pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-testベクターを1または2箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3876	<i>Bsp</i> CI	1	2600	<i>Not</i> I	1	1859
<i>Acc</i> I	2	7 263	<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Nsp</i> I	2	40 3860
<i>Ac</i> /I	2	2369 2742	<i>Bsp</i> MI	2	1114 651	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Afl</i> III	2	28 3860	<i>Bsr</i> BRI	2	3882 4119	<i>Pci</i> I	1	3860
<i>Ahd</i> I	1	2967	<i>Bsr</i> DI	2	2731 2913	<i>Psh</i> BI	1	2796
<i>Alw</i> 44I	2	2300 3546	<i>Bsr</i> GI	1	368	<i>Psp</i> 1406I	2	2369 2742
<i>Alw</i> NI	2	565 3446	<i>Bss</i> SI	2	2303 3687	<i>Psp</i> AI	1	2104
<i>Apa</i> I	1	170	<i>Bst</i> API	1	1810	<i>Psp</i> OMI	1	170
<i>Apa</i> LI	2	2300 3546	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Pst</i> I	2	76 1808
<i>Ase</i> I	1	2796	<i>Bst</i> ZI	2	58 1860	<i>Pvu</i> I	1	2600
<i>Ava</i> I	2	1 2104	<i>Bsu</i> 36I	1	192	<i>Pvu</i> II	1	258
<i>Avi</i> II	1	2747	<i>Cfr</i> 9I	1	2104	<i>Sac</i> I	1	2092
<i>Axy</i> I	1	192	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Sac</i> II	1	2098
<i>Bal</i> I	2	1016 1061	<i>Drd</i> I	1	3752	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bam</i> HI	1	2110	<i>Eag</i> I	2	58 1860	<i>San</i> DI	1	128
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eam</i> 1105I	1	2967	<i>Sca</i> I	1	2489
<i>Bbs</i> I	2	1152 1630	<i>Ecl</i> HKI	1	2967	<i>Sex</i> AI	1	1421
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Eco</i> 52I	2	58 1860	<i>Sgr</i> AI	2	1020 1509
<i>Bcg</i> I	1	2445	<i>Eco</i> 81I	1	192	<i>Sma</i> I	1	2104
<i>Bgl</i> I	1	2848	<i>Eco</i> ICR	1	2092	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Blp</i> I	1	1716	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Ssp</i> I	1	2165
<i>Bmr</i> I	2	2922 563	<i>Fsp</i> I	1	2747	<i>Tfi</i> I	2	881 923
<i>Bpu</i> 1102I	1	1716	<i>Hrd</i> III	2	22 1714	<i>Vsp</i> I	1	2796
<i>Bsa</i> AI	1	1183	<i>Kpn</i> I	1	3876	<i>Xba</i> I	1	1853
<i>Bsa</i> BI	2	3882 4119	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bso</i> BI	2	1 2104	<i>Msc</i> I	2	1016 1061	<i>Xma</i> I	1	2104
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Nco</i> I	2	89 1722			
<i>Bsp</i> 1407I	1	368	<i>Nhe</i> I	1	34			

表 2. pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I
<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III
<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I
<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI
<i>Rsr</i> II	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I
<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I								

### pSLG(PEST)-test ベクター配列

```

1  ctcgaggctcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcgc aattcctgca
81  gcccaccacc atggctaacg agatcatcct gcaaggcgcc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc
161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tcttgaggga ggccctgata gacgcccaca ccgaggaggt ggtgtcttac
241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgtc acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt
321 gtgcagcgag aatagcacca tcttcttcta ccccgatgac gccgcctgtg acatgggcgt gatcaccgcc accgtgaacg
401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactgggtg totgctccaa gaaggccatc
481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcacga agaagggtgt gctgctggac agcaaggagg atatgggcga
561 ggcccagtg ctagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg

```

641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccaccggc ctgccaaagg gcgtgggtgt gaccacaggg  
 721 aacctgagcg tgcgcttctg ccactgcaag gacccctgt tccgaccag aacctcccc tccacctcca tctgttccat  
 801 cgtgcccttc caccacgctc tcggaatgtt cacaaccctg tctacttca tctgtgggct gagagtgtg ctgtgaaga  
 881 gattcgagga gaagttcttc ctgagcacca tcgagaagta cagaatccca acaatcgtgc tggccctcc tgtgatgtg  
 961 ttcttggtta agagccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcgggc cccctgtggg  
 1041 caccgaggtt gccgtggcgg tggccaagcg gctgaagatc ggcgccatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgtc  
 1121 gcgcctgtgt gatcaccccc caccgacgac tgaagaccgg ctccaccggc agggtagacc cctacgtgca ggctaagatc  
 1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
 1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggtt ggctgcactc cggcgacgtg ggatactacg  
 1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggtt accaggtggc ccccgccgag  
 1441 ctggagtggt tgctgtctca gcacccatcc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg cggcgagct  
 1521 gcccgggccc tgcctcgtgc tccaggaggg caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgcc gagcgagtgt  
 1601 ctcccaccaa gogcatccgg ggccgagtcg tcttctgtga cgacatcccc aaggcgccca cgggcaagct ggtgagaagc  
 1681 gagctcgga agctgtgtgc ccagaagaag tccaagctta gccatggctt cccgcccagg gtggaggagg aggtgtgtg  
 1761 cagctgccc atgtctgtg cccaggagag cgggatggac cgtcacctg cagcctgtgc ttctgttagg atcaatgtgt  
 1841 agatgccatt cttctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag  
 1921 tgaaaaaaat gctttatttg tgaaatttgt gatgtattg ctttatttgt aaccattata agctgcaata aacaagttaa  
 2001 caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca  
 2081 aatgtggtat ggagctcccg cggcccgggg gatcctcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataatgtctt  
 2161 caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc cttatttccc ttttttgcgg cttttgcct  
 2241 tctgttttt gtcaccccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgtgaag atcagttggg tgcacgagt gggtacatcg  
 2321 aactggatct caacagcggg aagatccttg agagtttctg ccccgaaaga cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt  
 2401 ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgcggggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctgagaatga  
 2481 cttggttagg tactcaccag tcacagaaaa gcactttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa  
 2561 ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac tctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacac  
 2641 atggggggtc atgtaactcg cttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac  
 2721 gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa  
 2801 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tctgataaa  
 2881 tctggagcgg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg tctgattat  
 2961 ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctcactg attaaagcatt  
 3041 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagg tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg  
 3121 aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccctaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa  
 3201 gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgtctgt tgcaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg  
 3281 tggtttgttt gccggtacaa gagctaccaa ctttttttcc gaaggttaact ggcttcagca gagcgagat accaaatact  
 3361 gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaattct  
 3441 gttaccagtg gctgtctgca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc  
 3521 agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag  
 3601 cgtgagctat gagaaagcgc caccgttccc gaaggagaa aggcggacag gtatccggtg agoggcaggg tcggaacagg  
 3681 agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tccccacctc tgacttgagc  
 3761 gtcgattttt gtgatgtctg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc  
 3841 ttttctggc cttttctca catgttcttt cctgcggtac cgatcataat cagccatacc acattttagg aggttttact  
 3921 tgctttaaaa aacctccac accctcccct gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgttgttaac ttgtttattg  
 4001 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt  
 4081 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag ccataaccaca tttgttagagg ttttacttgc  
 4161 tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaaatgaat caattgttgt tgttaacttg tttattgcag  
 4241 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt  
 4321 ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctg

# pSLO(PEST)-test ベクター配列

1 ctcgaggctc acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtogg ccgatatcgc aattcctgca  
 81 gccaccacc atggctaacg agatcatcct gcacggcgcc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
 161 agctctacag gccctgacc aacttctcct tctgaggga ggccctgac gacgccaca ccgaggaggg ggtgtcttac  
 241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaaagtgt acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt  
 321 gtgcagcgag aatagcacca tcttcttcta cccctgacg gccgcctgt acatgggogt gatcaccgcc accgtgaacg  
 401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactggtgt tctgtccaa gaaggccatc

481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatgggcga  
561 ggcccagtg ctagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg  
641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccaccggc ctgccaaagg gcgtggtgct gaccacagg  
721 aacctgagcg tgcgcttctg ccactgcaag gacccctgt tggcaacag aacctcccc tccacctcca tctgtccat  
801 cgtgcccttc caccacgcct tcggaatgtt cacaacctg tctacttca tctgtggcct gagagtgtg ctgtgaaga  
881 gattcgagga gaagtcttct ctagcacca tcgagaagta cagaatccca acaatcgtgc tggccctcc tgtgatgtg  
961 ttcctggcta agagccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcggcg cccctgtggg  
1041 caccgaggtt gccgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggcgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgt  
1121 gcgcgtgct gatcacccc cagcagcag tgaagaccg ctcaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaagg  
1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggcatcgc aaggagggt ggctgcactc cggcgactg ggatactacg  
1361 acgacgatgg acatttcttc gtgtggacc ggtgaaaga gctgatcaag tacaagggt accaggtggc cccgcggag  
1441 ctggagtggc tgctgtctca gcacctcc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggcgg ccggcgagct  
1521 gcccggcgcc tgcacgtgc tccaggagg caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgc gagcgagtgt  
1601 ctcccacaa gcgcacccg ggcgagtcg tcttctgga cgacatccc aaggcgcca ccggcaagct ggtgagaagc  
1681 gagctcgga agctgtggc ccagaagaag tccaagctta gccatggctt ccgcggag gtggaggagc aggtgtgtg  
1761 cacgtgccc atgtctgtg ccaggagag cgggatggac cgtcacctg cagcctgtgc ttctgtagg atcaatgtgt  
1841 agatgccatt cttctagag gccgcggc acatgataag atacattgat gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag  
1921 tgaaaaaat gctttattt tgaaatttgt gatgctattt ctttatttgt aaccattata agctgcaata aacaagttaa  
2001 caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca  
2081 aatgtggtat ggagctccc cggccgggg gatcctcaaa tatgtatccg ctcagtagac aataacctg ataatgtct  
2161 caataatatt gaaaaaggaa gtagtagat attcaacatt tccgtgtgc cttattccc tttttgagg cttttgcct  
2241 tctgttttt gtcaccccag aaacgttgt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg  
2321 aactggatct caacagcgg aagatcctg agagtttccg cccgaagaa cgttttcaa tgatgagcac ttttaaagt  
2401 ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgcgggc aagagcaact cggctgcggc atacactatt ctcagaatga  
2481 cttggttag tactaccag tcacagaaa gcatcttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa  
2561 ccatgagtga taacactgc gccacttac tctgacaac gatcgaggga ccgaaggagc taaccgctt tttgcacaac  
2641 atgggggac atgtaactc cttgatcgt tgggaaccg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac  
2721 gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgc caaactatta actggcgaac tacttactct agcttccgg caacaattaa  
2801 tagactggat ggaggcggat aaagtgtcag gaccattct gcgctcgcc cttccggctg gctggtttat tgcgtataaa  
2881 tctggagcgg gtgagcgtg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag cctcccgtg tctagttat  
2961 ctacacgac gggagtcagg caactatgga tgaacgaat agacagatc ctgagatagg tgccctactg attagcatt  
3041 ggtaactgtc agaccaagt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg  
3121 aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccctaac gtgagtttct gttccactga gcgtcagacc cgtagaaaa  
3201 gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcta atctgtgct tgcaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg  
3281 tggtttgtt gccgatcaa gagctaccaa cttttttcc gaaggttaact ggcttcagca gagcgagat accaaatact  
3361 gttcttctag ttagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaattct  
3441 gttaccagt gctgtgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagtaccg gataaggcgc  
3521 agcgtcggg ctgaacggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag  
3601 cgtgagctat gagaaagcg cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag gtatccgga agcggcaggg tcggaacagg  
3681 agagcgacg agggagcttc caggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggt tgcacacctc tgaactgagc  
3761 gtcgatttt gtgatgctc tcaggggggc ggagcctat gaaaaacgcc agcaacggc ctttttaac gttcctggcc  
3841 ttttgcgtgc cttttgtca catgttctt cctgcggtac cgatcataat cagccatacc acattttag aggttttact  
3921 tgctttaaaa aacctccac acctccccc gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgtgttaac ttgtttattg  
4001 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaat aaagcatttt tttactgca ttctagttgt  
4081 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag ccataaccaca tttgtagagg tttacttgc  
4161 tttaaaaaac ctcccacacc tccccgtga cctgaaacat aaaaatgat caattgtgt tgttaactg tttattgcag  
4241 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaaataa gcatttttt cactgcattc tagttgtgtg  
4321 ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctg

## (7) pSLR(PEST)-test

表1. pSLR(PEST)-testを1または2箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3885	<i>Bst</i> BI	1	250	<i>Nco</i> I	2	89 1731
<i>Acc</i> I	1	7	<i>Bst</i> EII	1	1599	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Ac</i> /I	2	2378 2751	<i>Bst</i> PI	1	1599	<i>Not</i> I	1	1868
<i>Afl</i> III	2	28 3869	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Nsp</i> V	1	250
<i>Ahd</i> I	2	1070 2976	<i>Bst</i> ZI	2	58 1869	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Alw</i> 44I	2	2309 3555	<i>Bsu</i> 36I	1	694	<i>Pci</i> I	1	3869
<i>Apa</i> LI	2	2309 3555	<i>Cbi</i> I	1	250	<i>Ple</i> I	2	2982 3499
<i>Ase</i> I	1	2805	<i>Cfr</i> 9I	1	2113	<i>Psh</i> BI	1	2805
<i>Avi</i> II	1	2756	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Psp</i> 1406I	2	2378 2751
<i>Axy</i> I	1	694	<i>Csp</i> 45I	1	250	<i>Psp</i> AI	1	2113
<i>Bam</i> HI	1	2119	<i>Drd</i> I	1	3761	<i>Pvu</i> I	2	117 2609
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eag</i> I	2	58 1869	<i>Pvu</i> II	2	160 1519
<i>Bbe</i> I	1	1162	<i>Eam</i> 1104I	2	97 2187	<i>Sac</i> I	1	2101
<i>Bbs</i> I	1	903	<i>Eam</i> 1105I	2	1070 2976	<i>Sac</i> II	1	2107
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Ear</i> I	2	97 2187	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bbv</i> CI	1	1686	<i>Ec</i> /HKI	2	1070 2976	<i>Sbf</i> I	1	1089
<i>Bci</i> VI	2	2133 3660	<i>Eco</i> 52I	2	58 1869	<i>Sca</i> I	1	2498
<i>Bc</i> /I	2	662 707	<i>Eco</i> 81I	1	694	<i>Sex</i> AI	1	1424
<i>Bgl</i> I	2	1658 2857	<i>Eco</i> ICR I	1	2101	<i>Sfo</i> I	1	1162
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> O65I	1	1599	<i>Sgf</i> I	1	116
<i>Blp</i> I	1	1725	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sgr</i> AI	1	1341
<i>Bmr</i> I	1	2931	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sma</i> I	1	2113
<i>Bpu</i> 1102I	1	1725	<i>Eco</i> T14I	2	89 1731	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bse</i> RI	2	1753 944	<i>Ehe</i> I	1	1162	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Fba</i> I	2	662 707	<i>Sse</i> 8387I	1	1089
<i>Bsp</i> 1407I	1	404	<i>Fsp</i> I	1	2756	<i>Ssp</i> I	1	2174
<i>Bsp</i> CI	2	117 2609	<i>Hind</i> III	2	22 1723	<i>Sty</i> I	2	89 1731
<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Kas</i> I	1	1162	<i>Vsp</i> I	1	2805
<i>Bsp</i> MI	1	1616	<i>Kpn</i> I	1	3885	<i>Xba</i> I	1	1862
<i>Bsr</i> DI	2	2740 2922	<i>Lsp</i> I	1	250	<i>Xcm</i> I	2	968 1307
<i>Bsr</i> GI	1	404	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bss</i> SI	2	2312 3696	<i>Mly</i> I	2	3499 2982	<i>Xma</i> I	1	2113
<i>Bst</i> API	1	1819	<i>Nar</i> I	1	1162	<i>Xmn</i> I	1	2377

表 2. pSLR(PEST)-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apa</i> I	<i>Asc</i> I
<i>Avr</i> II	<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII
<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I
<i>Eco</i> O109I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI
<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OM I	<i>Rsr</i> II	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I
<i>Sfi</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I			

## pSLR(PEST)-test ベクター配列

1 ctcgaggctcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcg aattcctgca  
 81 gccaccacc atggaagaag agaacatcgt gaattggcgat cgccctcggg atctggtgtt ccttggcaca gccggcctgc  
 161 agctgtatca gtccctgtat aaatactctt acatcaccga cggaatcatc gacgccaca ccaacgaggt gatctcctat  
 241 gccagattt tcgaaacaag ttgccgctg gccgtgagcc tggagaagta tggcctggat cacaacaacg tggtgccat  
 321 ttgcagcgag aacaacatcc acttcttcgg ccctctgacg gctgccctat accaggggat tccaatggcc acatccaacg

401 atatgtacac cgagagggag atgatcggcc acctgaacat ctccaagcca tgtctgatgt tctgttccaa gaagtccctg  
481 ccattcatcc tgaaggtgca gaagcacctg gactttctca agaaggtgat cgtgatcgac agcatgtacg acatcaacgg  
561 cgtggagtgc gtgttcagtt tcgtgtcccg gtacaccgat catgcgttcg atccagtga gttcaaccct aaagagtttg  
641 atccccctgga gagaaccgcg ctgatcatga catcctcttg aacaaccggc ctgcctaagg gcgtggtgat cagccacagg  
721 agcatcacca tcagattcgt ccacagcagc gatcccatct acggcacccg catcgcccca gatacatcca tctggccat  
801 cgcgccctttc caccacgcct tcggactgtt taccgccctg gcttactttc cagtgggcct gaagatcgtg atggtgaaaa  
881 agtttgaggg cgagttcttc ctgaagacca tccagaacta caagatcgct tctatcgttg tgccctctcc aatcatggtg  
961 tatctggcca agagccctct ggtggatgag tacaatctgt ccagcctgac agagatcgcc tgtggcggtc cccctctggg  
1041 cagagacatc gccgacaagg tggccaagag actgaaggtc cacggcatcc tgcagggcta tggcctgacc gagacctgta  
1121 gcgcctgat cctgagcccc aacgatagag agctgaagaa gggcgccatc ggcaccccta tgccctatgt ccaggtgaag  
1201 gtgattgaca tcaacaccgg caaagccctg ggaccaagag agaaggcgga gatttgcttc aagagccaga tgcgtatgaa  
1281 gggctaccac aacaaccac accgccaccag ggatgccctg gacaaggacg ggtggctgca caccggcgat ctgggctact  
1361 acgacgagga cagattcatc tatgtggttg atcggtgaa agaactcatc aagtacaagg gctaccaggt ggcgccctgcc  
1441 gagctggaga acttgcttct gcagcacctt aacatctctg atgccggcgt catcgccatc ccagacgagt ttgccggcca  
1521 gctgccttcc gctgtgtcg tctggagcc tggcaagacc atgaccgaga aggaggtgca ggattatctc gccgagctgg  
1601 tgaccaccac caagcacctg cggggcgggc tgggttctat cgacagcatt ccgaaaggcc caacaggcaa gctgatgaga  
1681 aacgagctga gggccatctt tgcccgcgag caggccaagt ccaagcttag ccatggcttc ccgccggagg tggaggagca  
1761 ggctgctggc acgctgcccc tgtcttctgc ccaggagagc gggatggacc gtcacctgc agcctgtgct tctgctagga  
1841 tcaatgtgta gatgccattc ttctagagcg gccgccaga catgataaga tacattgatg agtttgaca aaccacaact  
1921 agaatgcagt gaaaaaatg ctttatttct gaaatttctg atgctattgc tttatttcta accattataa gctgcaataa  
2001 acaagttaac aacaacaatt gcattcattt tatgtttcag gttcaggggg aggtgtggga gtttttttaa agcaagtaaa  
2081 acctctacaa atgtggtatg gagctccgc gcccggggg atcctcaa atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga  
2161 taaatgcttc aataatattg aaaaaggaag agtatgagta ttcaacattt ccgtgtcgcc cttattccct tttttcgggc  
2241 attttgctt cctgtttttg ctaccccaga aacgctggtg aaagtaaaag atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg  
2321 gttacatcga actggatctc aacagcggtg agatccttga gagttttcgc cccgaagaac gttttccaat gatgagcact  
2401 tttaaagttc tgctatgttg cgcggtatta tcccgattg acgccgggca agagcaactc ggtcgccgca tacactattc  
2481 tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag catcttacgg atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg  
2561 ctgccataac catgagtgat aacactgcgg ccaacttact tctgacaacg atcgaggagc cgaaggagct aaccgctttt  
2641 ttgcacaaca tgggggatca tgtaactcgc cttgatcgtt gggaaccgga gctgaatgaa gccataccaa acgacgagcg  
2721 tgacaccacg atgcctgtag caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttcccggc  
2801 aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgctcgggcc ttccggtggt ctggtttatt  
2881 gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgcggtg tcatgacgc actggggoca gatggtgaag cctcccgat  
2961 cgtagtatc tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat gaacgaaata gacagatcgc tgagataggt gcctcactga  
3041 ttaagcattg gtaactgtca gaccaagttt actcatatat actttagatt gattttaaac ttcattttta atttaaaagg  
3121 atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgacaaaaa tcccttaacg tgagttttcg ttccactgag cgtcagacc  
3201 cgtagaaaag atcaaaagat cttcttgaga tcttttttt ctgcgcgtaa tctgtgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc  
3281 taccagcggg ggtttgtttg ccggatcaag agctaccaac tctttttccg aaggttaactg gcttcagcag agcgagata  
3361 ccaaatactg ttcttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa ctctgtagca ccgcctacat acctcgctct  
3441 gctaactcgt ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag tctgtcttta ccgggttga ctcaagacga tagttaccgg  
3521 ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga  
3601 tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc acgcttccc aaggagagaa ggccgacagg tatccggtaa gcggcagggt  
3681 cggaacagga gagcgcacga gggagcttcc agggggaaac gcctggtatc tttatagtc tgctgggttt cggcacctct  
3761 gacttgagcg togatttttg tgatgctcgt cagggggcg gagcctatgg aaaaacgcca gcaacgcggc ctttttacgg  
3841 ttcttgccct tttgctggcc tttgctcac atgttctttc ctgcggtacc gatcataatc agocatacca cattttaga  
3921 ggttttactt gctttaaaaa acctcccaca cctccccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattgtt gttgttaact  
4001 tgtttattgc agcttataat gtttacaat aaagcaatag catcacaat ttcacaaata aagcattttt ttactgcat  
4081 tctagtgtg tttgttccaa actcatcaat gtatcttct atgtctggat cataatcagc cataccacat tttagagggt  
4161 tttacttgct ttaaaaaacc tcccacacct cccctgaac ctgaaacata aaatgaatgc aattgttgtt gtttaactgt  
4241 ttattgcagc ttataatggt tacaataaaa gcaatagcat cacaaattc acaataaag catttttttc actgcattct  
4321 agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctg

## [7] トラブルシューティング

### (1) クローニング

現象	対応
ターゲット領域の PCR 増幅が上手くいかない	ターゲット領域に GC リッチな領域が含まれる場合、PCR 反応効率が低下することがあります。下記のように PCR を行うことによって改善される場合があります。 ・PCR を 2 ステップサイクルにする。 ・PCR の Denature ステップを 98°C、10 秒にする。 ・5%程度の DMSO を PCR 反応液に添加する。
コロニーダイレクト PCR が上手くいかない	適切なプライマーを使用してください(p.7 参照)。 また、上記のように PCR を行うことによって改善される場合があります。

### (2) トランスフェクション

現象	対応
ルシフェラーゼが発現しない、または発現が低い	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ もともと発現の低いプロモーターの可能性がります。低レベルの発現の確認には SLO または SLG が適しています。SLR に連結されている場合、SLO あるいは SLG に組み換えることをお勧めします。</li> <li>・ トランスフェクション試薬あるいは条件が不適当な可能性があります。試薬や条件を変えて実施してください。</li> <li>・ プラスミド抽出の際、大腸菌が混入した可能性があります(顕微鏡で観察すると、細胞以外に菌体が認められます)。フェノール／クロロホルム抽出を実施してください。</li> <li>・ プラスミドの純度が低い可能性があります。Endotoxin の混入が少なくなるように再精製してください。</li> </ul>

## [8] 参考文献

1. Nakajima, Y., Kimura, T., Suzuki, C., and Ohmiya, Y. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 948-951(2004)
2. Nakajima, Y., Ikeda, M., Kimura, T., Honma, S., Ohmiya, Y. and Honma, K. *FEBS Letters* **565**, 122-126 (2004)
3. 近江谷克裕 生化学, **76**, 5-15(2004)
4. 中島芳浩、菅田和法、近江谷克裕 バイオテクノロジージャーナル, 7-8, 453-455(2005)
5. Nakajima, Y., Kimura, T., Sugata, K., Enomoto, T., Asakawa, A., Kubota, H., Ikeda, M. and Ohmiya, Y. *Biotechniques*, **38**,891-894(2005)
6. Li, X., Zhao, X., Fang, Y., Jiang, X., Duong, T., Fan, C., Huang, C.C., Kain, S.R. *J. Biol. Chem.* **273**, 34970-34975(1998)
7. Andrew G.B., Joanna B., Cameron S.O., and Peter N.C. *Plasmid*, **44**, 173-182(2000)



## [9] 関連商品

品名	内容	Code No.
挿入配列確認用プライマー(フォワード、pSLG/pSLO/pSLR 共通) <b>SLGOR-F primer</b>	200 pmoles	MRV-401
挿入配列確認用プライマー(リバース、pSLG/pSLO 共通) <b>SLGO-R primer</b>	200 pmoles	MRV-402
挿入配列確認用プライマー(リバース、pSLR 用) <b>SLR-R primer</b>	200 pmoles	MRV-403
MultiReporter Assay System –Tripluc <sup>®</sup> – <i>in vitro</i> アッセイ用試薬 <b>Detection Reagents</b>	100 回用	MRA-101
MultiReporter Assay System –Tripluc <sup>®</sup> – <i>in vivo</i> アッセイ用試薬 <b>D-luciferin (カリウム塩)</b>	20 mg 20 mg x 5	MRL-101 MRL-101X5
High Fidelity PCR 用酵素 <b>KOD –Plus–</b>	200 U	KOD-201
High Fidelity PCR 用酵素 <b>KOD –Plus– Ver.2</b>	200 U	KOD-211
Taq ベースのブレンド型 PCR 用酵素 <b>Blend Taq<sup>®</sup></b>	250 U	BTQ-101
Taq ベースのブレンド型 PCR 用酵素 (Hot start 対応) <b>Blend Taq<sup>®</sup> –Plus–</b>	250 U	BTQ-201
簡単ライゲーション <b>Ligation high</b>	50 回用	LGK-101
コンピテントセル <b>Competent high DH5 <math>\alpha</math></b>	0.1ml×10 本	DNA-903
PCR スクリーニング <b>InsertCheck –Ready–/InsertCheck –Ready– Blue</b> ＜プライマーフリー＞	100 回用	PIK-151 PIK-251







【製造・販売元】

**TOYOBO** 東洋紡績株式会社

－納期・注文に関するお問い合わせ－

ライフサイエンス事業部（大阪）

〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目 2 番 8 号

TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

E-mail : order\_lifescience@toyobo.jp

ライフサイエンス事業部（東京）

〒141-8633 東京都品川区東五反田二丁目 10 番 2 号 東五反田スクエア

TEL 03-6422-4819 FAX 03-6422-4951

E-mail: order\_lifescience@toyobo.jp

－製品の内容・技術に関するお問い合わせ－

テクニカルライン

TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833

開設時間 9:00～12:00 , 13:00～17:00（土、日、祝を除く）

E-mail : tech\_osaka@toyobo.jp

[URL] <http://www.toyobo.co.jp/bio>